



This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

- + *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
- + *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
- + *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
- + *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at <http://books.google.com/>



Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.

ALLGEMEINE MIKROBIOLOGIE

DIE LEHRE

VOM

STOFF- UND KRAFTWECHSEL DER KLEINWESSEN

FÜR ÄRZTE UND NATURFORSCHER

DARGESTELLT

VON

DR. MED. WALTHER KRUSE

O. PROF. UND DIREKTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTS
AN DER UNIVERSITÄT KÖNIGSBERG I. PR.



LEIPZIG

VERLAG VON F. C. W. VOGEL

1910

Nachdruck verboten
Übersetzungen vorbehalten

Copyright 1910 by F. C. W. Vogel, Leipzig.

Druck von August Pries in Leipzig.

* - C.P.R. 24

K75

U.

10

HERRN CARL FLÜGGE

DEM SCHÖPFER DER „MIKROORGANISMEN“

UND

MEISTER DER GESUNDHEITSLEHRE

IN ALTER VEREHRUNG

DER VERFASSEN

M364033

Vorwort.

Dieses Buch macht den Anspruch, ein völlig neues und selbständiges Werk zu sein, und ist doch äußerlich betrachtet in Abhängigkeit von einem älteren, den Flüggeschen „Mikroorganismen“ entstanden.

Bekanntlich hat Flüggé 1886 in seinen „Mikroorganismen“, die er als 2. Auflage der 1883 im Handbuche der Hygiene von Ziemssen und Pettenkofer erschienenen „Fermente und Mikroparasiten“ bezeichnet hat, zum ersten Male den Versuch gemacht, die damals zwar nicht mehr ganz junge, aber doch erst seit dem Auftreten Pasteurs und R. Kochs mit reichem Inhalt gefüllte Lehre von den Kleinwesen zugleich vom naturwissenschaftlichen und medizinisch-hygienischen Standpunkte aus umfassend und tiefgründig zu bearbeiten. In wie vollständigem Maße ihm das gelungen ist, weiß derjenige zu schätzen, der sich damals in die Wissenschaft einzuarbeiten und darin mitzuarbeiten hatte. Das zeigte sich auch, als wir, d. h. Frosch, E. Gotschlich, Kolle, R. Pfeiffer und ich, 10 Jahre später von Flüggé die Neubearbeitung der 3. Auflage übertragen erhielten. Sie war zwar äußerlich stark verändert und auf das Doppelte erweitert, trug aber doch allenthalben noch den Stempel des Flüggeschen Geistes. Auch dieses Werk hat eine Reihe von Jahren seinen Zweck, eine möglichst vollständige Zusammenfassung des mikrobiologischen Wissens zu liefern, erfüllt.

Als 1902 die Aufgabe an Flüggé herantrat, eine 4. Auflage zu veranstalten, lehnte er wegen Überlastung mit anderen Arbeiten jede weitere Beteiligung ab und übertrug mir, der ich schon den größeren Teil der 3. Auflage bearbeitet hatte, die Herausgabe. Ich übernahm sie freudig, obwohl ich mir die Schwierigkeiten, die dabei zu überwinden waren, nicht verhehlte. Die wohl in der Geschichte der Wissenschaften beispiellosen Fortschritte, die das Ende des letzten und der Anfang des neuen Jahrhunderts der Mikrobiologie gebracht hat, machten für die Neubearbeitung eine Änderung des Planes nötig. Es standen zwei Wege offen. Wenn ich das Werk mit den alten Zielen fortsetzen wollte, hätte ich es auf mindestens 4 Bände erweitern und die Hilfe zahlreicher

Mitarbeiter in Anspruch nehmen müssen. Ich verzichtete darauf, und zwar zunächst schon aus dem äußeren Grunde, weil zu jener Zeit zwei derartige große Sammelwerke, das eine von K o l l e und W a s s e r m a n n, vorwiegend für Ärzte, und das von L a f a r, für Gärungsphysiologen bestimmt, im Erscheinen begriffen waren. Mit ihnen in Wettbewerb zu treten war kaum zweckmäßig. Andererseits verkannte ich nicht, daß solche Sammelwerke doch verschiedene Nachteile haben: sie lassen notwendigerweise die Einheitlichkeit der Auffassung und Darstellung vermissen, geben hier leicht zu viel, da und dort zu wenig. Ich gestehe also, es hatte viel Verlockendes für mich, selbst das ganze Werk zu schreiben. Natürlich mußte ich mich dann wegen der überwältigenden Menge des Stoffes in gewisser Weise bescheiden und konnte das auch ganz gut. Vor allem lag kein Bedürfnis vor, die Einzeldarstellungen der Kleinwesen und ihrer Leistungen, deren Vollständigkeit ja den Hauptwert der Sammelwerke ausmachen, zu wiederholen. Ebenso war es erlaubt, die hygienischen und technischen, diagnostischen und therapeutischen Gesichtspunkte, die heutzutage in allen Lehrbüchern zur Geltung kommen, mehr in den Hintergrund treten zu lassen, und erwünscht, in erster Linie die b i o l o g i s c h e und p a t h o l o g i s c h e Seite zu berücksichtigen.

Trotzdem ist mir das Werk unter den Händen mehr, als ich dachte, angeschwollen. Ich übergebe hier zunächst den ersten Teil, die a l l g e m e i n e M i k r o b i o l o g i e, der Öffentlichkeit. Sie behandelt die L e h r e v o m S t o f f - u n d K r a f t w e c h s e l d e r K l e i n w e s e n, ist von den folgenden Teilen völlig unabhängig und nicht bloß für Ärzte, sondern für alle solche Naturforscher geschrieben, die sich nicht in ihr Sonderfach einspinnen wollen. Sind doch die Leistungen der Kleinwesen einerseits so mannigfaltig und eigenartig, andererseits oft so durchsichtig, daß die Wissenschaft vom Leben in allen ihren Teilen aus ihrer Kenntnis reiche Früchte ziehen kann, aber auch die Chemie alle Ursache hat, sich mit ihnen zu beschäftigen.

Die Handschriften für die folgenden Teile, die I n f e k t i o n s - und I m m u n i t ä t s l e h r e, sind in der Hauptsache ebenfalls vollendet.

Ich sagte oben, mein Buch mache den Anspruch auf Selbständigkeit. Das heißt natürlich nicht, daß ich die Arbeit meiner Vorgänger gering einschätzte — im Gegenteil verdanke ich ihnen sehr viel —, sondern nur, daß ich bestrebt war, mir möglichst überall durch Zurückgehen auf die Quellen und möglichst oft durch Nachprüfung ein eigenes Urteil zu bilden. Die Laboratoriumserfahrung des einzelnen, mag sie noch so vielseitig sein und sich auf ein halbes Menschenleben voll Arbeit gründen, ist ja freilich bei der heutigen Ausdehnung unseres Faches

und der Beschränktheit der in unsern Instituten verfügbaren Mittel und Hilfskräfte kaum mehr als ein Tropfen in dem vollen Becher der Wissenschaft.

Da ich ja auch noch viele andere Dinge zu tun hatte, sind acht Jahre über der Arbeit hingegangen. Ich darf aber wohl sagen, daß sie mir bis zuletzt Freude gemacht hat, und daß ich viel dabei gelernt habe. Hoffentlich geht es anderen bei der Benutzung dieses Werkes ebenso.

Man verübele es mir nicht, daß ich mir einige Mühe gegeben habe, wo angängig Fremdwörter durch deutsche zu ersetzen. Ich sehe nicht ein, warum die wissenschaftliche Sprache, insbesondere der Ärzte durchaus ein Kauderwelsch sein soll.

Durch möglichst zahlreiche Verweisungen im Text, denen ein ausführliches Inhalts- und Stichwörterverzeichnis zur Seite steht, glaubte ich die Benutzung des Buches zu erleichtern.

K ö n i g s b e r g , im Oktober 1910.

Kruse.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Widmung	III
Vorwort	V
Inhaltsverzeichnis	IX
Kap. I. Bau der Kleinwesen und mikrochemisches Verhalten . . .	1
§ 1. Bau und Chemismus. § 2. Plasmolyse. § 3. Unregelmäßige Formen. § 4. Kapseln. § 5. Zerstörung durch mechanische Einflüsse.	
§ 6. Zerstörung durch chemische Einflüsse.	
§ 7. Pyocyanase. § 8. Lipaide. § 9. Selbstverdauung. § 10. Verdauung. § 11. Bakteriolyse durch Serum. § 12. Antiformin. § 13. Alkalien. § 14. Salze und andere Lösungsmittel. § 15. Schlußfolgerungen aus der Wirkung der Lösungsmittel. § 16. Koagulierende und andere desinfizierende Einflüsse.	
§ 17. Farbstoffe. Kernfärbungen bei Bakterien. § 18. Gramfestigkeit. § 19. Säurefestigkeit. § 20. Schlüsse aus den Farbreaktionen auf die Natur der Bakterienzelle. § 21. Körnerfärbungen. § 22. Vorratsstoffe. Fett. Volutin.	
Kap. II. Chemische Zusammensetzung der Kleinwesen	51
§ 23. Analysenergebnisse. § 24. Schlüsse aus den Analysen. § 25. Proteinstoffe und deren Abkömmlinge. § 26. Fette, Cholestearin, Lezithin, Wachs usw. § 27. Kohlenhydrate und Membranstoffe. § 28. Aschenbestandteile.	
Kap. III. Die Nährstoffe der Kleinwesen	88
§ 29. Einleitung. Methoden. § 30. Bedarf an Aschenbestandteilen, Schwefel und Phosphor. § 31. Bedarf an Sauerstoff. Aërobiose und Anaërobiose. § 32. Der Stickstoffbedarf. § 33. Der Kohlenstoffbedarf. § 34. Zusammenfassung.	
Kap. IV. Weitere Bedingungen der Ernährung	124
§ 35. Aufgaben der Ernährung. Beziehung der Nährstoffe zu bestimmten Zelleistungen. § 36. Wachstum, Leben und Tod. § 37. Erklärung der Wachstumserscheinungen. Hungertod. § 38. Dauerzustände. Sporen. § 39. Befruchtung der Protozoen.	
§ 40. Dichtigkeit der Nährböden. § 41. Reaktion der Nährböden. § 42. Einfluß der Temperatur auf die Ernährung. § 43. Bewegung und Erschütterung. § 44. Druckerhöhung. § 45. Elektrizität und Licht. § 46. Beeinflussung der Bewegungen durch physikalische Reize.	

§ 47. Schädigung durch eigene Stoffwechselerzeugnisse. Selbstvergiftung. § 48. Schädigung durch fremde Stoffwechselerzeugnisse. § 49. Förderung durch eigene Stoffwechselerzeugnisse. Autobiöse. § 50. Förderung durch fremde Stoffwechselerzeugnisse. Symbiose und Metabiöse. § 51. Vergiftung und Infektion höherer Organismen. Schädliche Parasiten. § 52. Nützliche und harmlose Parasiten. § 53. Reizstoffe der Wirte und Parasiten. Gegenwirkungen. § 54. Kleinwesen als Nahrungsspender und Erzeuger anderer nützlicher Stoffe.

§ 55. Chemische Ernährungsreize. § 56. Chemische Bewegungsreize. § 57. Ernährungsgifte und Gegenwirkungen der Mikroorganismen. § 58. Auswahl der Nährstoffe bei gemischter Ernährung. Spaltung razemischer Verbindungen, Zusammenwirken von Nährstoffen.

Kap. V. Die Stoffwechselvorgänge im allgemeinen 196

§ 59. Einleitung. § 60. Hydrolytische Spaltungen und Verflüssigungen. § 61. Spaltungsgärungen. § 62. Oxydationen. § 63. Reduktionen. § 64. Anhydridbildung. § 65. Verdichtungen. § 66. Synthesen. § 67. Zusammenfassung. § 68. Fortsetzung. Gegenstoffe, Hilfsstoffe der Kleinwesen.

Kap. VI. Umwandlungen der Kohlenhydrate im Stoffwechsel . . 214

§ 69. Hydrolytische Spaltungen. Verzuckerung der Stärke. Diastase. § 70. Verzuckerung des Dextrins. Dextrinase. § 71. Inulinase. § 72. Glykogenase. § 73. Verflüssigung des Pflanzenschleims. § 74. Pektinase. § 75. Pektingärung. § 76. Zellulase (Zytase). § 77. Hydrolyse der Di- und Trisaccharide. § 78. Saccharase (Invertase). § 79. Maltase. § 80. Trehalase. § 81. Melibiase. § 82. Laktase. § 83. Raffinase. § 83 a. Zusammenfassung.

§ 84. Spaltungsgärungen der Kohlenhydrate. Alkoholgärung. § 85. Erreger der Alkoholgärung. § 86. Verhalten der zusammengesetzten Kohlenhydrate zur Alkoholgärung. Einteilung der Hefen. § 87. Beziehungen der Vergärbarkeit zum Bau der Monosaccharide. § 88. Theorie der alkoholischen Zuckerspaltung. § 89. Zymase. § 90. Erzeugnisse der alkoholischen Gärung. § 91. Einfluß des Hefewachstums und des Sauerstoffzutritts auf die Gärung. Selbstvergärung. § 92. Selbstverdauung der Hefe und ihre Hemmung. § 93. Gärungsgeschwindigkeit, Gärvermögen und Vergärungsgrad. § 94. Gärungsgewerbe. Bierbrauerei. § 95. Weinbereitung. § 96. Branntweinbrennerei. § 96 a. Aus Mischgärungen hervorgehende Genußmittel.

§ 97. Milchsäure- und gemischte saure Gärungen. Einteilung ihrer Erreger. § 98. Verschiedene Arten der sauren Gärung. § 99. Milchsäuregärung. § 100. Einfluß des Gärmaterials auf die Milchsäuregärung. § 101. Stärke der Milchsäuregärung. Gärungsenzym. § 102. Die Beschaffenheit der Milchsäure. § 103. Die anaerobe Essigsäuregärung oder essigsaure Gärung der Kohlenhydrate. § 104. Alkoholische

Gärung durch Bakterien. § 105. Wasserstoffgärung. § 106. Glyzerin-, Mannit- und Schleimgärung. § 107. Bernsteinsäuregärung. § 108. Ameisensäuregärung. § 109. Propionsäuregärung. § 110. Andere Nebenerzeugnisse der Milchsäuregärung.

§ 111. Bedeutung der Milchsäurebakterien für die Gewerbe. § 112. Verwertung der Säure- und Gasbildung zur Unterscheidung der Bakterien.

§ 113. Buttersäure- und Butylalkoholgärung. Erreger. § 114. Chemismus der Buttersäuregärung. § 115. Chemismus der Butylalkoholgärung. § 116. Bedeutung der Buttersäuregärung.

§ 117. Vergärung der Zellulose und des Gummis. Sumpfgasgärung. § 118. Entstehung des Humus, der Kohle, des Grubengases.

§ 119. Oxydation der Kohlenhydrate. § 120. Glykonsäure-, Glykuronsäure-, Zuckersäuregärung. § 121. Zitronensäuregärung. § 122. Oxalsäuregärung. § 123. Vollständige Verbrennung der Kohlenhydrate.

§ 124. Reduktion der Kohlenhydrate: Mannitgärung. § 125. Schleimige Mannitgärung. § 126. Mannitbildung durch Schimmelpilze.

§ 127. Aufbau von Disacchariden und Polysacchariden aus Hexosen und Pentosen. § 128. Gummi und Schleimgärungen. § 129. Zusammensetzung und Entstehung des Bakterienschleims. § 130. Bildung von Stärke und Zellulose.

Kap. VII. Wandlungen der Alkohole, Fette und Fettsäuren . . . 418

§ 131. Umwandlungen der höheren Alkohole. Gärungen. § 132. Oxydationen der höheren Alkohole. Sorbosegärung.

§ 133. Umwandlungen der niederen Alkohole. § 134. Verbrennung der Alkohole. § 135. Aërobe Essigsäuregärung. § 136. Gewerbliche Darstellung des Essigs.

§ 137. Umwandlungen der Fette und Fettsäuren. Hydrolysen. § 138. Lipasen. § 139. Spaltungsgärungen der Fettsäuren. § 140. Vergärung der Ameisensäure. § 141. Sumpfgasgärung der Essigsäure. § 142. Vergärung der Milchsäure. § 143. Vergärung der Glykolsäure, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Brenzweinsäure. § 144. Vergärung der Glyzerinsäure. § 145. Sumpfgasgärung der Buttersäure. § 146. Vergärung der Apfelsäure. § 147. Vergärung der Weinsäure. § 148. Vergärung der Zitronensäure, Schleimsäure, Glykuronsäure. § 149. Oxydation der Fette und Fettsäuren. § 150. Das Ranzigwerden der Fette. § 151. Reduktion von Fetten und Fettsäuren. § 152. Synthesen aus Fettsäuren.

Kap. VIII. Wandlungen der Glykoside und aromatischen Körper . 454

§ 153. Einleitung. § 154. Hefe-Emulsin. § 155. Schimmelpilz-Emulsin. § 156. Zersetzungen von Glykosiden durch

Bakterien. Farbgärungen. § 157. Tabaksfermentation, Selbsterhitzung des Heus und anderer Pflanzenstoffe. § 158. Veränderungen der Gerb- und Humusstoffe. § 158a. Veränderungen von aromatischen Holzbestandteilen durch Pilze. § 159. Oxydasen. § 160. Katalase. § 161. Reduktion von Farbstoffen. Reduktasen. § 162. Reduktionen in Milch und Abwasser. § 163. Synthesen von Glykosiden und aromatischen Stoffen.

Kap. IX. Wandlungen der Eiweißkörper 482

§ 164. Einleitung. § 165. Proteolytische (Verdauungs-)Enzyme. § 166. Selbstverdauung der Kleinwesen. Endotryptase.

§ 167. Tiefe Spaltung der Eiweißkörper. Fäulnis. § 168. Fäulnis durch Anaerobier. § 169. Fäulnis durch Proteusbazillen. § 170. Eiweißspaltungen durch Vibrionen und andere Aerobier. Ptomaine. § 171. Fortsetzung. Ammoniakbildung durch Aerobier. § 172. Eiweißspaltung durch Schimmelpilze und Strahlenpilze. § 173. Eiweißspaltung durch Hefe. Bildung von Alkoholen und Aldehyden, Geruchs- und Geschmacksstoffen. § 174. Eiweißspaltung durch nicht peptonisierende Bakterien. § 175. Zusammenfassendes über die Eiweißspaltungen.

§ 176. Oxydation von Eiweißstoffen. Verwesung.

§ 177. Eiweißgerinnung. Labenzym. § 178. Käse- reifung.

§ 179. Gemischte Fäulnis und Verwesung. Produkte derselben. § 180. Erreger der Fäulnis und Verwesung, insbesondere des Fleisches. § 181. Fäulnis und Verwesung anderer tierischer Stoffe. § 182. Fäulnis und Verwesung von Pflanzenstoffen. § 183. Fäulnis und Verwesung im Boden und Wasser. § 184. Wirkung des Luftsauerstoffs auf die Fäulnis. § 185. Einfluß der Reaktion auf Fäulnis und Verwesung. § 186. Einfluß gewisser Stoffe auf die Fäulnis. § 187. Einfluß physikalischer Bedingungen auf Fäulnis und Verwesung. § 188. Fäulnis und Krankheit.

Kap. X. Wandlungen einfacher Stickstoffkörper 588

§ 189. Einleitung. Spaltung des Lezithins und Cholins. § 190. Spaltung der Gallensäuren und des Taurins. § 191. Spaltung der Säureamide, besonders der Hippursäure. § 192. Fleischextraktivstoffe. § 193. Harnsäure, Purinbasen. § 194. Zersetzung des Kalkstickstoffs. § 195. Vergärung des Harnstoffs.

§ 196. Nitrifikation. Salpetergärung.

§ 197. Denitrifikation, Nitritbildung. § 198. Stickstoffgärung. § 199. Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak. § 200. Entwicklung von Stickstoffoxyden. Bedeutung der Stickstoffentbindung.

§ 201. Bindung freien Stickstoffs. Knöllchenbakterien. § 202. Wurzelpilze. § 203. Stickstoffbindende Kleinwesen. § 204. Bedeutung der Stickstoffbindung im Boden.

Kap. XI. Wandlungen des Schwefels	634
§ 205. Einleitung. Abspaltung des Schwefelwasserstoffs aus organischen Verbindungen. § 206. Merkaptanbildung. § 207. Oxydation des Schwefels und seiner Verbindungen. § 208. Farblose Schwefelbakterien. § 209. Purpurbakterien. § 210. Andere Erreger der Schwefelsäuregärung. § 211. Reduktion des Schwefels und seiner Verbindungen. § 212. Sulfatreduktion. Schwefelwasserstoffgärung.	
Kap. XII. Wandlungen anderer anorganischer Stoffe	658
§ 213. Einleitung. Wandlungen des Phosphors. § 214. Reduktion der selenigen und tellurigen Säure. § 215. Reduktion des Arsens durch Schimmelpilze. § 216. Eisenbakterien. § 217. Veränderungen der Chlor-, Brom- und Jodverbindungen.	
Kap. XIII. Die Wege des Sauerstoffs und die Beziehungen des Stoff- und Kraftwechsels	667
§ 218. Einleitung. § 219. Atmung der Aërobier. Atmungsquotient. § 220. Ergebnisse von Atmungsversuchen. § 221. Verfahren zur Gasuntersuchung. § 222. Sauerstoffübertragende Enzyme. Oxydasen. § 222 a. Sauerstoffspeicherung. § 223. Intramolekulare Atmung und Gärung. § 224. Fortsetzung. Befriedigung des Energiehungers durch die Gärung. § 224 a. Gärungsenzyme. § 225. Atmung durch sauerstoffreiche Verbindungen. § 226. Atmung im Hungerzustande. Selbstverbrennung. § 227. Berechnung der Wärmeentwicklung bei der Atmung und Gärung.	
§ 228. Verflüssigungs- und Verdauungsvorgänge. Hydrolysen.	
§ 228 a. Reduktionen. § 228 b. Anhydridbildung und Kondensationen. Gerinnung. § 229. Stoffaufbau. Bildung der Kohlenhydrate. § 230. Bildung der Fette. § 231. Bildung der Eiweißkörper.	
§ 232. Stoff- und Kraftwechselrechnung. Ausnützung und Verbrauch der Nahrung bei Schimmelpilzen.	
§ 233. Stoff- und Kraftwechsel bei Hefepilzen. § 234. Stoff- und Kraftwechsel aërober Bakterien. § 235. Stoff- und Kraftwechsel bei gärungserregenden Bakterien. § 236. Zusammenfassendes über die Stoff- und Kraftwechselbilanz der Kleinwesen.	
§ 237. Kraftleistungen der Kleinwesen. Wärmeentwicklung. § 238. Lichtentwicklung.	
Kap. XIV. Fermente (Umsatzstoffe)	749
§ 239. Einleitung. § 240. Ausscheidung, Darstellung und chemische Natur der Enzyme. Zeitlicher Verlauf der Fermentwirkung. Abhängigkeit von der Dichte der zu verändernden Stoffe. § 242. Abhängigkeit der Wirkung von der Fermentmenge. Verbrauch der Fermente. § 243. Untersuchungsverfahren.	
§ 244. Einfluß der Temperatur auf Fermente und Fermentwirkung. § 245. Einfluß des Lichts und der Elektrizität. § 246. Einfluß von Säuren und Alkalien. § 247. Einfluß von Salzen, Metalloxyden und anderen Bestandteilen des Nährbodens. Kofermente. § 248. Einfluß von Giften. Zymoparalysatoren.	

§ 249. Spezifische Wirkung und Bindung der Fermente. Gegenkörper und Zwischenkörper der Enzyme. § 250. Bildung der Fermente. Zymogene. § 251. Grenzen der Fermentierung. Umkehrbarkeit ihrer Wirkung. Synthetische Fermente.

Kap. XV. Farbstoffe der Kleinwesen 778

§ 252. Vorkommen und Lagerung. § 253. Chemische Zusammensetzung der Farbstoffe. § 254. Bedingungen der Farbstoffbildung. § 255. Bedeutung der Farbstoffe.

Kap. XVI. Gifte der Kleinwesen 790

§ 256. Einleitung. Beschaffenheit und Wirkungsweise. § 257. Bedeutung der Gifte für ihre Erzeuger.

§ 258. Stoffwechselgifte. § 259. Organische Basen. Ptomaine. § 260. Giftige Fette.

§ 261. Geschichte und Darstellung des Diphtheriegiftes. § 262. Bau des Diphtheriegiftes. Toxoides. § 263. Diphtherie-Toxone. § 264. Giftspektren. Proto-, Deutero-, Tritotoxine und -Toxoides. § 265. Epitoxonoides. § 266. Schlußbemerkungen über die Ehrlichsche Giftanalyse. § 267. Vorübergehende Veränderungen des Diphtherie- und anderer Impfgifte.

§ 268. Die Eigengifte der Kleinwesen im allgemeinen. § 269. Einfluß des Wirkungsortes und der Tierart auf die Giftigkeit. § 270. Wirkungsweise der Eigengifte. Inkubationszeit. § 271. Bildungsweise der Eigengifte. § 272. Gewinnungsweise der Eigengifte. Ekto- und Endotoxine. § 273. Reinigung der Eigengifte. Chemische Natur. § 274. Giftzerstörende und giftbindende Einflüsse.

§ 275. Bau der Impfgifte (Immuntoxine). § 276. Abweichende Auffassungen über den Bau der Impfgifte. § 277. Fortsetzung. § 278. Bedingungen, welche die Giftbindung beeinflussen. § 279. Verhältnis der zuleitenden und impfenden zu der bindenden Giftgruppe. Ehrlichs Seitenkettentheorie.

§ 280. Endotoxine, sekundäre Gifte, Bakterienproteine. Entzündungs-, Fieber-, Darmgifte.

§ 281. Die Eigengifte der einzelnen Bakterien. Tetanusgift. § 282. Wurstgift. § 283. Rauschbrand- und andere Anaërobiorgifte. § 284. Choleragift. § 285. Vibrionengifte. § 286. Typhusgift. § 287. Paratyphus- und Fleischgifte. § 288. Gifte des Colibazillus. § 290. Die Gifte der hämorrhagischen Septizämien. § 291. Pestgifte. § 292. Milzbrandgift. § 293. Rotlaufgift. § 294. Pneumoniegift. § 295. Streptokokkengift. § 296. Meningokokkengift. § 297. Gonokokkengift. § 298. Streptokokkengift. § 299. Pyocyaneusgifte. § 300. Proteusgift. § 301. Gifte von Heubazillen, Prodigiosus und anderen Saprophyten. § 302. Influenzagift. § 303. Keuchhustengift. § 304. Tuberkelgift. § 305. Rotzgift. § 306. Gifte der Strahlenpilze. § 307. Gifte von Schimmelpilzen. § 308.

Gifte von Hefepilzen. § 309. Gifte bei Pflanzenkrankheiten.
 § 310. Gifte der Protozoen. § 311. Gifte der Chlamydozoen.
 § 312. Blutgifte (Hämolysine) der Bakterien. § 313.
 Hämolysine als spezifische Gifte. § 314. Der Vorgang der Hä-
 molyse. § 315. Hämolytische Wirksamkeit der Kleinwesen im
 Tierkörper. § 316. Hämagglutinine der Bakterien.
 § 317. Leukozidine. § 318. Organgifte.

Kap. XVII. Angriffs-, Reiz- und Impfstoffe 1021

§ 319. Geschichte und Vorkommen der Angriffsstoffe
 (Aggressine). § 320. Darstellung und Eigenschaften der
 Aggressine. § 321. Aggressivität und Giftigkeit. § 322. Wir-
 kung der Angriffsstoffe auf Leukozyten, Phagozyten und
 Opsonine. § 323. Antibakterizide Wirkung der Angriffsstoffe.
 § 324. Antilytische Wirkung der Angriffsstoffe. § 325. Antikom-
 plementäre Wirkungen der Angriffsstoffe. § 326. Schluß.
 § 327. Angriffstoffe, Bakterienrezeptoren und Impfstoffe. § 328.
 Theorie der Virulenz. § 329. Fortsetzung. Andere Erklärungen der
 Virulenz. § 330. Veränderlichkeit der Virulenz und Angriffsstoffe.

§ 331. Reiz- und Impfstoffe. Entzündungs-
 und Fieberstoffe. § 332. Spezifische Entzündungsstoffe.

§ 333. Lysinogene und tropinogene Impfstoffe. § 334.
 Andere Impfstoffe (Antigene). § 335. Agglutinogene. Immu-
 nisierende Fähigkeit. § 336. Zusammengesetzte Natur der
 Agglutinogene. § 337. Bindende Fähigkeit der Agglutinogene.
 § 338. Bindungsgesetz. § 339. Natur der Bindung. § 340.
 Veränderungen des Bindungsvermögens. § 341. Agglutininier-
 barkeit. § 342. Präzipitinogene. § 343. Reaginogene. § 344.
 Anaphylaxogene.

**Kap. XVIII. Veränderlichkeit und Stammesgeschichte der Klein-
 wesen 1122**

§ 345. Allgemeines. § 346. Form und Größe. § 347.
 Sporen. § 348. Beweglichkeit. § 349. Zusammensetzung des
 Mikrobenleibes und mikrochemische Reaktionen. § 350. Wider-
 standsfähigkeit. § 351. Wachstum in künstlichen Nährböden
 und Kolonieförmigen. Peptonisierungsvermögen und Schleim-
 bildung. § 352. Temperatur und Sauerstoffspannung. § 353.
 Zersetzungen und Zersetzungsstoffe. § 354. Farb-, Riechstoffe
 und Lichtbildung. § 355. Giftigkeit. § 356. Infektiosität.

§ 357. Natürliche Abarten und Arten. § 358. Entstehen
 und Verschwinden von Krankheitserregern in der Geschichte.
 § 359. Einteilung und Abstammung der Klein-
 wesen.

Stichwörterverzeichnis 1170

Kapitel I.

Bau der Kleinwesen und mikrochemisches Verhalten.

§ 1. **Bau und Chemismus.** Wenn wir uns vergegenwärtigen, daß die chemischen Leistungen der Kleinwesen wie der höheren Zellen in letzter Linie auf der Anordnung der sie zusammensetzenden Moleküle beruhen, so könnten wir uns von vornherein wohl vorstellen, daß es einmal gelänge, aus den sichtbaren Eigenschaften, der Form, Größe und dem Aussehen der Mikroben diese Leistungen zu erschließen, mit anderen Worten, die Ergebnisse der sogenannten morphologischen Untersuchung für die Aufklärung der chemischen Eigenschaften zu benutzen. Indes hat die Erfahrung immer wieder gelehrt, daß trotz aller Vervollkommnungen unseres Sehvermögens durch das moderne Mikroskop und mikroskopische Hilfsmittel davon bisher gerade in der Welt der Mikroben nicht die Rede sein kann. Allerdings wissen wir, daß Drüsen-, Muskel- und Nervenzellen ein besonderes Aussehen haben und glauben wohl mit Recht, daß die Leistungen derselben mit gewissen feinen für uns sichtbaren Merkmalen etwas zu tun haben, aber allzu weit führt uns diese Kenntnis nicht, und bei den Kleinwesen läßt uns die mikroskopische Untersuchung fast vollständig im Stich. Einer Hefezelle können wir nicht ansehen, ob sie Alkohol zu erzeugen vermag oder nicht, einem Bakterium nicht, ob es Milchsäure erzeugt, Gelatine verflüssigt oder eine Krankheit erregt. Ja, im allgemeinen können wir noch nicht einmal nach dem Aussehen entscheiden, ob eine Zelle tot oder lebendig ist. Trotzdem ist die Morphologie (Formenlehre) der Mikroben natürlich auch für die chemische Mikrobiologie von großer Bedeutung, zunächst schon deswegen, weil sie uns die **E r - k e n n u n g** der Gärungs- und Krankheitserreger erleichtert. Wissen wir doch, daß nicht unterschiedslos alle Leistungen mit jeder Form verbunden sein können, sondern daß z. B. die hauptsächlichsten Erreger der alkoholischen Gärung unter den Sproßpilzen, die der Milchsäuregärung unter den Streptokokken und gramfesten Bazillen, die der Buttersäuregärung unter den Anaerobiern, und ebenso die Ursachen des Tetanus, der Pest, der Cholera, der Tuberkulose auch unter bestimmten Bakterienformen zu suchen sind. Weiter zeigt uns die Mor-

phologie, ob und inwieweit die Form und die Formentwicklung der Kleinwesen denen höherer Zellen ähnelt und erweitert dadurch unsere Vorstellungen über den Zusammenhang zwischen Form und Lebenserscheinungen. Das wichtigste Ergebnis der Forschung, das in dieser Beziehung gewonnen ist, nehmen wir hier gleich vorweg: es ist die, trotz aller Versuche, das Gegenteil zu beweisen, gesicherte Tatsache, daß ein Kern in dem Sinne, wie wir ihn bei den höheren Wesen finden, bei der wichtigsten Klasse der Mikroben, den Bakterien, fehlt, oder anders ausgedrückt, daß die Zelle bei diesen Wesen sich noch nicht deutlich in Kern und Plasma geschieden hat, also besser vielleicht als Zytode bezeichnet wird. Die Lehren und Vermutungen, die über die Bedeutung der Kerne für das Leben ausgesprochen worden sind, finden also hier keine Anwendung. Vielleicht hängt damit auch der Mangel der geschlechtlichen Fortpflanzung¹⁾ bei den Bakterien zusammen. Durch ihre Kernlosigkeit trennen sich die Bakterien von den beiden anderen Hauptgruppen²⁾ der Mikroben, den Pilzen und Protozoen und stellen sich als die niedersten Wesen dar, die in gewisser Weise den Häckelschen Moneren entsprechen. Allerdings besitzen die Bakterien, wenigstens häufig, eine mehr oder weniger deutliche Zellhaut, stehen also in dieser Hinsicht, wie die Pilze, über den meisten Protozoen. Die letzteren benutzen freilich diesen scheinbaren Mangel gewöhnlich in einer Weise, die man als einen Fortschritt bezeichnen kann: sie verleiben sich durch Verschiebungen

1) Als primitive Art der Kopulation faßt Schaudinn (Arch. Protistenkunde 1 und 2, 1902—03) die Vorgänge bei der Sporenbildung des Bac. Bütschlii (aus dem Darm der Küchenschabe) und des Bac. sporonema (aus Meerwasser) auf. Hier tritt zuerst eine Zellteilung ein, die aber wieder zurückgeht, dabei bilden sich 1—2 Sporen. Nach Schaudinn handelt es sich um eine rückschrittliche Entwicklung, die von echter Kopulation zum Verlust der Befruchtung führt. Wenn sich die Mitteilungen Schaudinns bestätigten, würden wir uns auf den umgekehrten Standpunkt stellen, weil wir die Bakterien als die niedersten Wesen betrachten (§ 359). Der Vorgang wäre übrigens ein ähnlicher, wie bei dem zu den Sproßpilzen gehörigen Schizosaccharomyces octosporus (Schjönning).

2) Eine vierte Gruppe, die der „filtrierbaren Virus“ oder „Chlamydozoen“ (v. Prowazek), steht wohl den Protozoen am nächsten (§ 359). Über ihre Morphologie ist nichts bekannt, da die eigentlichen Keime unsichtbar, die sichtbaren „Zelleinschlüsse“ aber wahrscheinlich Reaktionsprodukte der tierischen Zellen sind. Trotzdem scheint die Größe der Parasiten nicht jenseits der mikroskopischen Sichtbarkeit zu liegen, denn Rosenthal (Zeitschr. f. Hyg. 60) fand in sorgfältigen vergleichenden Versuchen die Chamberlandfilter F für Spirill. parvum ($1-3\ \mu : 0,1-0,03\ \mu$) durchlässig, nicht für den Erreger der Hühnerpest.

ihres hüllenlosen Protoplasmas feste Nahrung ein, zeigen also die erste einfachste Form der tierischen Ernährung, während Pilze und Bakterien auf die Aufnahme gelöster Nahrung angewiesen sind. Auf die verwickelten Einrichtungen, die bei höheren Protozoen mit dieser Art der Ernährung verbunden sind, brauchen wir hier um so weniger einzugehen, als gerade die uns als Krankheitserreger wesentlich angehenden Protozoen fast alle einfacher gebaut sind, ja sich vielfach nach Art der Bakterien und Pilze durch Diffusion von gelösten Stoffen nähren. Im übrigen betrachten wir es nicht als unsere Aufgabe, die morphologischen Verhältnisse der Mikroben ausführlich zu behandeln¹⁾, sondern begnügen uns, in folgendem die Ergebnisse der mikrochemischen und mikrophysikalischen Forschung wiederzugeben, die uns freilich noch nicht das Verständnis der lebenden Substanz und der Lebenserscheinungen erschließen, aber doch die ersten Schritte in dieser Richtung darstellen und jedenfalls die Ergebnisse der groben chemischen Untersuchung (Kap. II) ergänzen.

§ 2. Plasmolyse. Einen wichtigen Aufschluß über den Bau der Bakterienzellen haben uns zunächst gegeben die Beobachtungen über Plasmolyse, d. h. die Zusammenziehung des Protoplasmas unter dem Einfluß wasserentziehender Stoffe, wie stärkeren Salzlösungen, Zucker und dergl. Besonders A. Fischer²⁾ hat diese Erscheinung systematisch studiert und gefunden, daß sich eine große Anzahl von Bakterien, wie der *Vibrio cholerae* und andere kleine und große Spirillen, der *Bacillus typhi*, *coli*, *pyocyaneus*, *fluorescens*, *prodigiosus*, der *Micr. candicans*, *Cladothrix* und *Crenothrix* gegenüber den genannten Mitteln, z. B. einer mehrprozentigen Kochsalzlösung³⁾ ähnlich verhalten

1) Vgl. über die Morphologie der Bakterien außer den Lehrbüchern Kruse in Flügges Mikroorganismen, 1. Bd., 1896, Migula, System der Bakterien, 1. Bd., 1897, Gotschlich in Kolle-Wassermann Handb., 1, 1903, und Ergänzungsband 2, 1907; über Pilze die bekannten älteren Werke und Lindau in Engler-Prantl Pflanzenfamilien 1897—1900; über Hefe die Bücher von Klöcker, 1900, Lindner, 1901 und Kohl 1908, über Chlamydozoen die seit der Entdeckung des *Cytoryctes variolae* durch Garnieri (1892) veröffentlichten Einzelarbeiten über Parasiten der Variola, Brustseuche, Maul- und Klauenseuche, Rinderpest, Hundswut, Hühnerpest, des Trachoms (?) usw.

2) Ber. Sächs. Ges. d. Wiss., Leipzig (1891). Jahrb. wiss. Bot., 27 (1894). Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl. (1903), S. 20.

3) Die Plasmolysierbarkeit schwankt, sie ist z. B. bei Cholerabazillen auf salzarmen Nährböden geringer als auf salzreichen. Aus der Grenzkonzentration, bei der Plasmolyse stattfindet, berechnet sich der osmotische Überdruck (Turgor) im gewöhnlichen Nährboden auf 1,4—2,1 Atmosphären; der gesamte osmotische Druck (in destilliertem Wasser) würde danach 2,8—3,5 betragen. Bei Züchtung auf stärker salzhaltigem Agar kann der

wie Pflanzenzellen, d. h. Lücken in dem mehr oder weniger homogenen Inhalt erscheinen lassen, die ganz den Eindruck machen, als ob sich die plasmatischen Zellkörper von einer unveränderten äußeren Schicht zurückziehen, also die Zellen auch bei den Bakterien mit einer Haut oder Membran bekleidet seien. Meines Erachtens kann über das Vorhandensein einer solchen nach dem Bilde, das man bei der künstlichen Plasmolyse zu sehen bekommt, kein Zweifel sein. Insofern ist freilich der Widerspruch, den Z e t t n o w ¹⁾ gegen die Membrantheorie äußert, berechtigt, als nicht alle Bakterienarten und auch nicht alle Individuen in Kulturen sich plasmolysieren lassen. Einige ziehen sich vielmehr im Ganzen zusammen, so daß man daraus eine gewisse Elastizität der Zellhaut erschließen könnte²⁾, in anderen Fällen sieht man überhaupt keine deutliche Veränderung, so daß die Annahme einer Membran hier zunächst in der Luft schwebt. A. F i s c h e r selbst unterscheidet die plasmolysierbaren (oben genannten) Arten von den nicht plasmolysierbaren, zu denen er den Bac. Anthracis, subtilis, megatherium, mesentericus, Staphylokokken, Sarcinearten und Milchstreptokokken (den „Bac. lactis acidi“), ferner mit Wahrscheinlichkeit Tuberkel- und Diphtheriebazillen rechnet, und nennt die ersteren impermeabel³⁾, die letzteren permeabel, indem er annimmt, daß die Zurückziehung des Plasmas von der Membran dann erfolge, wenn zwar die Moleküle des Wassers durch die Grenzschicht des Plasmas nach außen, aber die Salzmoleküle der Umgebung nicht durch sie von außen nach innen hindurchwandern können, der osmotische Druck im Innern also steigen muß, während das Plasma seinen osmotischen Druck und deshalb seine gewöhnliche Form behalte, wenn seine Grenzschicht für Wasser- und Salzmoleküle in gleicher Weise durchgängig sei⁴⁾.

Übrigens ist die Undurchgängigkeit des Plasmas stets nur eine

letztere Wert natürlich viel höher steigen. Schimmelpilze haben nach E s c h e n h a g e n (Leipzig, philos. Dissert. 1889) und F a l c k (Hauschwammforschungen, H. 1, 1907) und Hefenpilze nach S w e l l e n g r e b e l (Zentr. Bakt., 2. Abtlg., 14, 1905) gewöhnlich einen höheren Druck (10 Atmosphären u. mehr). Auf salzreichem Nährboden kann er bis auf 160 Atmosphären steigen. Der osmotische Druck der Pflanzen beträgt meist 5—15 Atmosphären, derjenige der tierischen Zellen liegt in der Nähe der unteren Zahl, da aber die tierischen Säfte einen ähnlichen Druck besitzen, so fehlt hier der Überdruck. Gleich Null ist der osmotische Druck oder Turgor bei den im Wasser frei lebenden hüllenlosen Amöben.

1) Zeitschr. f. Hyg., 24 (1897).

2) Nach Z e t t n o w gehören auch die großen Spirillen hierher, nach H i n z e (Ber. bot. Ges. 1901, 369) die Beggiatoen.

3) Besser „semipermeabel“.

4) Die Zellhaut selbst wäre nach F i s c h e r in jedem Falle permeabel.

vorübergehende, denn nach einiger Zeit, bei diesen Bakterien früher, bei jenen später, gleicht sich die Plasmolyse regelmäßig aus, sie kann auch anscheinend bei einer und derselben Bakterienart je nach dem Zustand, in dem sie sich befindet, verschieden sein und auch durch künstliche Behandlung beeinflusst werden. Bemerkenswert ist weiter, daß Harnstoff, Glycerin, Antipyrin, Chloralhydrat, und vielleicht alle Stoffe, die in Lipoiden löslich sind, keine Plasmolyse hervorrufen, das Plasma der Bakterien also für sie ebenso durchlässig ist, wie das der Pflanzenzellen, roten Blutkörper usw. (H. Meyer, Overton). Auch Gifte wie Jod in Salzlösung und konzentrierte Metallsalzlösung u. a. töten die Zellen erst, nachdem sie Plasmolyse hervorgerufen haben, dringen also langsam ein. Bakterien, die auf irgendeine Weise getötet oder freiwillig gestorben sind, werden nicht mehr plasmolysiert, sind also durch das Absterben durchgängig geworden. Wir werden dieser Veränderung von Reaktionen beim Absterben noch öfter begegnen. Man könnte die Erklärung Fischers für das Ausbleiben der Plasmolyse, wenn auch andere später zu besprechende Gründe dagegen vorliegen, zunächst zulassen, ohne doch die Voraussetzung zu billigen, daß überall eine eigentliche Zellhaut oder Membran bestände. Die im wesentlichen starren Formen der nicht plasmolysierbaren Bakterien ließen sich auch erklären durch die Annahme, daß die äußerste Schicht des Plasmas bei ihnen nur eine dichtere Beschaffenheit besitze, aber noch nicht in Form einer echten Membran abgeschieden sei. Freilich haben wir gerade auch bei manchen nicht plasmolysierbaren Arten andere Beweise für das Vorhandensein einer Zellhaut, so machen die Erscheinungen, die in sporenbildenden Bakterien, manchmal auch an alten Individuen nicht sporenbildender Formen als sog. „Schatten“ auftreten, ganz den Eindruck, als ob sich uns hier die Membran im leeren Zustande darstelle. Bei der Zerquetschung mancher großer Bakterien ist ähnliches beobachtet worden (§ 5.) Daß Sporen eine oder mehrere deutliche Membranen besitzen, wird fast allgemein zugegeben. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß eine Zellhaut notwendigerweise allen Bakterien und in allen Entwicklungsstadien zukommen müsse.

Auf die Beziehungen der Färbbarkeit (Gramfestigkeit) zur Plasmolysierbarkeit und die Erklärung der beiden Eigenschaften kommen wir später zurück (§ 18).

Man hat die Bedeutung der Plasmolyse und überhaupt der osmotischen Druckschwankungen für das Leben der Bakterien manchmal sehr hoch eingeschätzt¹⁾, sie z. B. als Ursache der spezifischen bakteri-

1) Vgl. Baumgarten (Berl. klin. Wochenschr., 99, 41 und 1900,

ziden Wirkungen des Blutserums angesehen, A. Fischer¹⁾ wollte sogar eine eigentümliche Art der Zerstörung von Bakterien, die „Plasmoptyse“ unter derartigen Bedingungen im Mikroskop beobachtet haben. Aber die von A. Fischer selbst gemachte Beobachtung, daß die Plasmolyse nur ein vorübergehender Zustand ist, daß ferner die Beweglichkeit trotz bestehender Plasmolyse erhalten bleiben kann, vor allem die Prüfung von Bakterien, die derartigen Druckschwankungen durch Überführung in stärker oder schwächer konzentrierte Nährlösungen unterworfen wurden, mittels Plattenzählungen²⁾ haben uns schon vom Gegenteil belehrt. Schließlich hat Leuchs³⁾ festgestellt, daß es gar keine Plasmoptyse gibt, die von Fischer beschriebenen Veränderungen vielmehr durch Unreinigkeiten des Deckglases vorgetäuscht werden. Damit wird natürlich nicht widerlegt, daß einerseits zu verdünnte Lösungen und namentlich destilliertes Wasser, und andererseits konzentrierte Salz- und Zuckerlösungen das Leben der Mikroben ungünstig beeinflussen, aber es liegt näher, an chemische Wirkungen dieser Mittel⁴⁾ zu denken (§ 14). Sehr zweifelhaft ist es, wie weit man Bilder, die man bei vielen Bakterien, sei es im frischen, sei es im fixierten Zustande, in jungen oder alten Kulturen beobachtet, auf Plasmolyse beziehen soll. Dahin gehören z. B. die Zerfallerscheinungen, die viele Forscher unter verschiedenen Bedingungen im Leibe von Milzbrandbazillen gesehen haben⁵⁾, die Polkörner in Typhusbazillen auf Kartoffeln, die scheibenartigen Glieder in Diphtheriebazillen, die „Vakuolen“ in Hühnercholera-bazillen („Polfärbung“). Es ist wahrscheinlich, daß viele davon in das Gebiet der Chromatolyse Gammeleias (§ 6), andere in das normaler Zellstrukturen gehören, oder auch nur Kunstprodukte sind, die durch die eingreifende Behandlung (Erhitzung) in den zarten Bakterienleibern hervorgerufen werden. Man könnte freilich noch daran denken, daß die Steigerung der molekularen Konzentration, d. h. des osmotischen Druckes, die nach Zange-

7—9; Arb. des pathol. Inst. Tübingens 3, 131) und seine Schüler Braem (ebd. 1), Jetter, Walz, Dietrich, (ebd. 3), Finckh (ebd. 4).

1) Zeitschr. f. Hyg., 35 (1900).

2) Vgl. z. B. v. Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg. 37 mit Lit., 1901.

3) Arch. f. Hyg. 54, 408. vgl. auch die Anm. in Fischers Vorlesungen, S. 31.

4) Vgl. auch die oligodynamischen Wirkungen von Beimischungen im destillierten Wasser bei Ficker, Zeitschr. f. Hyg. 29, 1898.

5) Vielleicht gehören auch hierher die Bilder von „Plasmolyse“, die Podwysotsky und Taranouchine in Lezithinnährböden gesehen haben (s. u. § 8).

meister¹⁾ in älteren Kulturen und pathologischen Sekreten eintritt, mit derartigen Veränderungen zusammenhänge, aber schon die Dauerhaftigkeit derselben spricht gegen ihre Deutung als plasmolytischer Vorgänge.

§ 3. Unregelmäßige Formen. Nicht nur durch ihre Dauerhaftigkeit, sondern auch durch ihre ganz andersartigen Folgen zu trennen von den plasmolytischen Einflüssen sind diejenigen, die zwar auch von konzentrierten Salzlösungen, außerdem aber von verdünnten Salzen oder anderen bekannten und unbekannten Stoffen ausgehen. Die ersten Beobachtungen über eigentümliche, von den gewöhnlichen abweichende Wuchsformen von Pestbazillen in salzreichen Nährböden machten Hankin und Leumann²⁾, nachdem Haffkine bereits auf das gelegentliche Vorkommen von solchen in gewöhnlichen Nährböden aufmerksam gemacht hatte. Auch zahlreiche andere Bakterien zeigen nach Skschivan³⁾, Matsushita⁴⁾ u. a. eine mehr oder weniger ausgesprochene Neigung zu ähnlichen Abweichungen vom Typus in kochsalzhaltigen Nährböden. Systematische Untersuchungen über die Reize, die zu ihrer Entwicklung führen, verdanken wir namentlich Gamaleia⁵⁾, Maassen⁶⁾, Rajat und Péju⁷⁾. Sie sprechen von Heteromorphie oder teratologischen Wuchsformen, die letztgenannten wenig glücklich von Polymorphosen, meinen damit aber dasselbe, was schon seit Nägeli unter dem Namen der Involutionsformen bekannt ist, und was wir als unregelmäßige Formen bezeichnet haben⁸⁾, d. h. kuglig, keulenspindelförmig oder wurstartig aufgetriebene, mehr oder weniger, zum Teil riesig vergrößerte oder fadenförmig verlängerte, echt verzweigte oder auch schraubenartig gedrehte Gestalten, die in alten Kulturen fast aller Bakterien hin und wieder vorkommen. Wenn man die Ursache ihrer Bildung in diesen Fällen mit einem gewissen Recht in den schädlichen Stoffwechselprodukten, die sich in alten Kulturen entwickeln, sehen darf, so hat schon Hansen⁹⁾ darauf hingewiesen, daß bei den Essigbakterien die Involutionsformen bei bestimmten Tempera-

1) Münch. med. Wochenschr. 1904, 4.

2) Zentralbl. Bakt. 22, 438, 1897.

3) Ebenda 28, 289, 1900.

4) Zeitschr. f. Hyg. 35, 1900.

5) Elemente der allgem. Bakteriologie, 1900.

6) Arb. K. Gesundheitsa. 21, 1904.

7) Soc. biol. 21, 12, 1907.

8) Kruse, Allgem. Morph. d. Bakt. in Flüggés Mikroorg. 3. Aufl. I, 61, 1896.

9) Ber. botan. Ges. 1893, 69.

turen schon auf der Höhe des Wachstums auftreten, und eher ein Zeichen guten Gedeihens als des Absterbens sind. Damit stimmt freilich nicht überein, daß Guignard und Charrin¹⁾, Wasserzug²⁾, Kübler³⁾ und Verfasser⁴⁾ dergleichen Formen bei Pyocyaneus- und Prodigiosusbazillen massenhaft sich entwickeln sahen, wenn sie diese in Nährboden mit entwicklungshemmenden Zusätzen wachsen ließen. Diese Erfahrung sowie der oben erwähnte Einfluß starker Salzlösungen und die von Gamaleia und Massen festgestellte fast spezifische Wirkung der Lithiumsalze (0,5—2%) und des Koffeins (0,4%) spricht vielmehr dafür, daß die unregelmäßigen Bildungen durch besondere Wachstumsreize veranlaßt werden. Wenn sie in gärenden Flüssigkeiten zahlreich gesehen werden, so braucht man sie deshalb mit Hüppe noch nicht als „Gärungsformen“ zu bezeichnen. Und erst recht ist es unstatthaft, diese oder jene Involutionsform, wie es von jeher von einzelnen Forschern und neuerdings wieder von Almquist⁵⁾ versucht worden ist, mit Fruchtbildungen höherer Pilze auf eine Stufe zu stellen. Die Ähnlichkeit mit „Conidien“ ist eine rein äußerliche. Das gilt auch für die Kolben der Strahlenpilze und anderer Bakterien⁶⁾. Diese werden mit größerem Recht jetzt ähnlich wie die Kapseln der Bakterien als Schutzbildungen aufgefaßt⁷⁾. Daß sie selbst meist fortpflanzungsunfähig sind, ändert daran nichts. Die „Drusen“ im Ganzen wirken wohl als Abwehrorgane.

Die früher nur selten bei einigen Bakterienarten beobachteten, neuerdings aber bei allen Bakteriengruppen gefundenen Verzweigungen als „Rückschläge“ zu betrachten, wird nur der vermögen, der mit A. Meyer⁸⁾ die Bakterien als entartete Pilze ansieht. Uns erscheint dies ausgeschlossen⁹⁾. Wir

1) Compt. rend. ac. sc. 105.

2) Ann. Pasteur 1888. Wiederholte Erhitzung auf 50° hat ähnliche Folgen.

3) Vgl. Zentralbl. f. Bakt. 5.

4) a. a. O.

5) Zentralbl. f. Bakt. 37.

6) Daß außer den manchmal allerdings in Kulturen nur in bazillären Formen auftretenden (vgl. z. B. Wolff u. Israel, Zeitschr. f. Hyg. 29) Mitgliedern der Aktinomyceten (Mykobakterien) auch echte gramnegative Bazillen ähnliche Drusen im Gewebe erzeugen können, scheint aus den Angaben von Lignières und Spitz über „Actinobacillose“ (Rivista Sociedad medica Argentina 1902) hervorzugehen.

7) Vgl. z. B. Mertens, Zeitschr. f. Hyg. 42 mit Lit. und Loele, ebd. 60, 1908.

8) ebenda 30.

9) Vgl. den letzten Abschnitt dieses Bandes: Über die Abstammung der Mikroben (§ 359).

folgern umgekehrt daraus, daß die Zweigbildung der Pilze eine Eigenschaft ist, die schon bei den Bakterien im Keim angedeutet ist, sich aber erst bei den Pilzen und Strahlenpilzen zu einer festen Eigenschaft entwickelt hat. Ebenso wird vielleicht durch das Vorkommen monadenähnlicher Formen bei manchen Bakterien¹⁾ die Abstammung der Flagellaten von ihnen wahrscheinlich. Im Falle der sogenannten B a k t e r o i d e n der Wurzelknöllchen erfüllen die verzweigten Formen außerdem eine wichtige biologische Aufgabe, indem sie entweder selbst die Stickstoffassimilation bewirken oder wenigstens als Eiweißspeicher für ihre Wirte dienen.

§ 4. Kapseln. Einer besonderen Art von Reizwirkung verdanken anscheinend auch die sogenannten K a p s e l n der Bakterien und pathogenen Hefepilze ihre Entstehung. Sie sind seit M e t s c h n i k o f f s ersten Beobachtungen an Milzbrandbazillen bei zahlreichen Arten, die sonst kapselfrei sind, zunächst im infizierten Tier gefunden²⁾ und deswegen als Schutzorgane gegenüber den keimwidrigen Kräften (Serum, Freßzellen u. a. m.) der Tiere betrachtet worden. Damit stimmt überein, daß sie auch außerhalb des Tierkörpers im Serum sich bilden. Die Beobachtung von D a n y s z ³⁾, daß abgeschwächte Milzbrandbazillen nicht nur im baktericiden Serum, sondern auch in einem Nährboden, in dem das Alexin durch einen anderen wachstumshemmenden Stoff (Arsenik) ersetzt worden war, sich mit Kapseln umkleiden und dadurch an das Wachstum darin gewöhnt werden konnten, sowie die von H l a v a ⁴⁾, der fand, daß die gemeinen pathogenen Streptokokken in Kulturen mit ungewöhnlich hohem Zuckergehalt (18%) Kapseln bilden, die den bekannten Bildungen des Leuconostoc mesenterioides vergleichbar sind, passen ebenfalls zu dieser Vorstellung, und man könnte diese auch auf die schon in den üblichen Nährböden gekapselten sogenannten Schleimbakterien (vgl. § 128), anwenden. Indessen liegen die Dinge nach den Feststellungen von B a i l ⁵⁾ und E i s e n b e r g ⁶⁾ doch nicht so einfach. Denn das Serum behält seine die Kapselbildung anregende Fähigkeit auch, wenn es

1) R u s s e l l , Zeitschr. f. Hyg. 11, 201.

2) S. bei E i s e n b e r g Zentralbl. 45, 148, 1907.

3) Annal. Pasteur 1900.

4) Zentralbl. Bakt. 32.

5) Zentralbl. 46, 488.

6) Ebenda 47, 415, 1908. Hier auch Methodik der Kapseldarstellung (vgl. H a m m , Zentralbl. 43, 287, der empfiehlt, die Bakterien in Aszitesflüssigkeit aufzuschwemmen, 30'' mit Osmiumdämpfen zu fixieren, zu trocknen und nach G i e m s a zu behandeln, wodurch sie rot, die Bakterien blau gefärbt werden).

durch Erhitzung oder durch Berührung mit Bakterienleibern seiner keimwidrigen Eigenschaften beraubt wird, oder, wie manche Tiersera, überhaupt von Anfang an die Entwicklung der Milchbrandbazillen nicht behindert. Die genannten Forscher kommen deshalb zu dem Schluß, daß die Kapsel nicht einfach als Abwehrorgan, als zweckmäßige Bildung, aufgefaßt werden dürfe, sondern daß gewisse Nahrungsreize, z. B. Eiweißstoffe im Serum sie veranlassen. Durch zu starke Erhitzung, Verdauung, Zusatz von Eiweißstoffen in großer Menge, ferner durch Berührung mit Zellen, Wachstum der Bazillen im Serum oder längeren Aufenthalt bzw. Überwucherung der Bazillen im Tierkörper kann sich der Reiz erschöpfen. Uns scheint die Frage noch nicht genügend geklärt. Denn es könnte sich hier doch um Stoffe handeln, die wenigstens Abkömmlinge der normalen Schutzstoffe des Serums sind und ihre Reizwirkung noch festhalten, wenn sie ihre schützende Wirkung schon verloren haben, etwa in ähnlicher Weise wie Toxoide nicht mehr giftig sind, aber ihre antitoxinbindende und -bildende Fähigkeit noch besitzen. Auch der Umstand, daß auf anderen anscheinend guten Nährböden einzelne Bakterienindividuen oder Stämme oder Arten mehr oder weniger zur Kapselbildung neigen (s. o.), ist meines Erachtens noch kein Grund, die teleologische Auffassung abzulehnen. Ebenso wenig der Nachweis, daß in vielen Fällen die Entwicklung einer Kapsel ihrem Träger gar keinen Schutz gewährt. Auch bei anderen Schutzeinrichtungen bleibt der Erfolg häufig aus, ohne daß man darum an ihrer Zweckmäßigkeit zu zweifeln brauchte. Im übrigen könnte man ganz gut die Vorstellung verteidigen, daß die Zusammensetzung der Kapseln bis zu einem gewissen Grade eine spezifische ist, daß also die Kapsel nur die äußerlich allein sichtbare Grundlage für bestimmte, je nach dem Reiz verschiedene Schutzstoffe ist. Bei Gelegenheit der Antigene kommen wir darauf zurück (§ 322 und 328).

Ähnlich zu beurteilen wie die Kapselbildung ist wohl die Vergrößerung, die bei manchen nicht zur Kapselbildung befähigten Bakterien, wie Typhusbazillen, Choleravibrionen u. dgl. unter ähnlichen Bedingungen auftritt (Bail und Rubritius, Tsuda¹⁾, Eisenberg). In dem einen wie in dem anderen Falle handelt es sich um eine Art „Hypertrophie des Ektoplasmas“ (§ 20). Der „Riesenwuchs“, der unter dem Einfluß von antiseptischen Mitteln beobachtet wird, (s. o. § 3) ist vielleicht auch eine ähnliche Erscheinung.

§ 5. Zerstörung durch mechanische Einflüsse. Wir kommen jetzt zu denjenigen Einflüssen, die das Aussehen der Kleinwesen

1) Zentr. Bakt. 46, 502.

unter Schädigung ihrer Leistungsfähigkeit verändern. In erster Linie sind die mechanischen Einwirkungen¹⁾ zu nennen, die den Zusammenhang des Leibes zerstören. Durch Zerreiben in mehr oder weniger wasserfreiem oder gefrorenem Zustand oder Zerschüttelung in feuchtem gelingt dies am besten, man bedient sich daher dieser Verfahren mit Erfolg, um die Leibesstoffe der Mikroben für die chemische Analyse (Kap. II) und den Nachweis von Enzymen (XIV), Giften (XVI) und Impfstoffen (XVII) zu gewinnen. Selbstverständlich erklärt sich der Erfolg dadurch, daß man nach der Zertrümmerung der einzelnen Bestandteile die Zellen mit den Lösungsmitteln in innigere Berührung bringen kann, das Wesentliche ist dabei aber oft nicht etwa die Zerstörung des Protoplasmas selbst, sondern die Sprengung der Zellhaut, mag man sich diese nun als eine besondere, z. B. durch Plasmolyse ablösbare Schicht oder als einen verdickten Teil des Plasmas selbst vorstellen. Unmittelbar beobachten kann man die Folgen dieses Eingriffs bei großen Bakterienformen, z. B. dem *Chromatium Okenii* nach Bütschli²⁾, dem *Bac. oxalaticus* nach Migula³⁾, großen Spirillen nach Zettnow⁴⁾, dem *Bac. sporonema* nach Schaudinn⁵⁾. Diese Forscher beschreiben den Vorgang allerdings nicht in der gleichen Weise. Während nach der einen Darstellung das Protoplasma der gequetschten Zellen aus einer deutlichen Haut heraustritt, und dann mehr oder weniger schnell, zum Teil unter Zurückbleiben von kleinen oder großen Körnern, aufquillt, zerfällt und sich löst, hat Zettnow nichts von einer Haut gesehen und schreibt auch dem Plasma eine erhebliche Widerstandsfähigkeit selbst gegenüber verdünnter Kalilauge (§ 13) zu. Man ist daher wohl, selbst wenn man die Beobachtung Zettnows über das Fehlen einer besonderen Haut nicht für ganz zweifellos hält, zu dem Schlusse berechtigt, daß die Haut allein in vielen Fällen den mehr flüssigen Zellkörper zusammenhält und auch dessen Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen Mitteln bedingt, während in

1) Von den sonst bekannten physikalischen Einflüssen, z. B. Licht, Wärme, scheint keiner wesentliche sichtbare morphologische Veränderungen von Bakterien zu veranlassen, auch nicht das Trocknen und das Erfrieren mit nachfolgendem Auftauen, selbst wenn es z. B. 40 mal bei Cholera-bakterien wiederholt wird (Brehmer, Arch. f. Hyg. 40). Protozoen werden aber meist dadurch sichtbar zerstört. Auch die Bakterien erleiden unsichtbare Veränderungen, denn sie verhalten sich nach Erhitzung, Abkühlung und Trocknen, wie verschiedene im folgenden aufzuführende Beispiele zeigen, anders als frische. Zum Teil liegt das am Absterben, zum Teil an unbekannten Einwirkungen (Koagulation?).

2) Bau der Bakterien 1890.

3) System der Bakterien, I., 85, 1897.

4) Zeitschr. f. Hyg. 24. 91, 1897.

5) Arch. Prot. 2, 1903.

anderen das Plasma selbst aus einer zähen und widerstandsfähigen Masse besteht. Genaue Angaben über die einzelnen Bakterienarten fehlen. Es verhalten sich übrigens nicht etwa alle nicht plasmolysierbaren Bakterien wie die Z e t t n o w s c h e n Spirillen, wenigstens berichtet von L i n g e l s h e i m (§ 298) von den Staphylokokken, daß sie trocken zerrieben zu 90% in klare Lösung gehen. Selbst die Tuberkelbazillen geben, allerdings erst nach sehr gründlicher Zertrümmerung etwa die Hälfte ihrer Substanz an Wasser ab (R u p p e l, § 304).

§ 6. Zerstörung durch chemische Einflüsse. Die Wandlungen, die die Kleinwesen durch chemische Mittel erleiden, sind gründlicher studiert worden, im Zusammenhange namentlich von G a m a l e i a ¹⁾. Er stellt die koagulierenden Desinfizientien, wie Säuren, Formaldehyd, Alkohol, Sublimat, hohe Temperaturen und die spezifischen Bakterienkoaguline, (auch „Elysine“, d. h. Präzipitine und Agglutinine) den lösenden gegenüber und trennt wieder die vollständige Bakteriolyse von der Chromato- und Stromatolyse. Bei der C h r o m a t o l y s e soll der eigentliche Zellkörper in Lösung gehen und schließlich nur die leere Membran als farbloser Schatten zurückbleiben²⁾. Destilliertes Wasser, Ptomaine, wie Methylamin, Äthylamin, Triäthylamin, Äthylen-diamin, nukleinsaures Ammoniak, Kasein, ein peptisches Verdauungsprodukt des Kaseins, namentlich aber Glutaminsäure und Koffein wirken chromatolytisch, während pflanzliche Alkaloide, sowie das dem Koffein nahestehende Theobromin, Xanthin, Harnsäure, ferner Nucleohiston und Nuklein unwirksam sind. Umgekehrt sollen nur die Bakterienmembran unter Schleimbildung lösen — S t r o m a t o l y s e verursachen — Alkalien und starke Salzlösungen. Die völlige Auflösung des ganzen Bakterienleibes, die eigentliche B a k t e r i o l y s e, wie man sie namentlich unter dem Einflusse der Immunkörper beobachtet, soll auch durch eine andere Gruppe von Stoffen hervorgerufen werden, auf deren Darstellung G a m a l e i a, wie er sagt, durch die Überlegung gekommen ist, daß man den Lösungsvorgang vielleicht mit Hilfe von Bakterien selbst durch eine Art „Vaccination im Reagenzglas“ verstärken könne. In der Tat soll man aus einer Flüssigkeit, in der Chromatolyse erfolgt ist, durch Fällung mit Essigsäure und Lösung des Niederschlags in Ammoniak ein „Bakteriolysin“, das Bakterien völlig zerstört, z. B. eine dicke undurchsichtige Bakterien-

1) Elem. der allg. Bakteriologie. 1900. S. 153 ff. und Anhang 207 und 219. Referat über die russischen Originalarbeiten im Zentralbl. Bakt. 26, 661.

2) Als bestes Mittel zur Darstellung von lytischen Erscheinungen empfiehlt G a m a l e i a Methylenblaufärbung.

aufschwemmung in eine durchscheinende, kaum noch trübe Flüssigkeit verwandelt, darstellen können. *Gamaleia* betrachtet dies „Ferment“ als eine Verbindung der chromatolytischen Substanz, z. B. der Glutaminsäure, mit einer Bakteriensubstanz, dem „Chromatinin“ und glaubt, daß es ein spezifischer Körper sei. Wenigstens löste das anthrakolytische Ferment viele Bakterien gar nicht und Milzbrandbazillen am stärksten. — Entsprechende Bakteriolyse erhielt *Gamaleia* aus Choleravibrionen und Diphtheriebazillen. Solche aus Tuberkelbazillen, Staphylokokken, Streptokokken, Typhus- und Pyocyaneusbazillen zu gewinnen, glückte ihm erst dadurch, daß er die Bakterien oder den tuberkulösen Eiter mit Trypsin oder Pepsin verdaute und die Lösung dann wieder mit Essigsäure fällte usw. Wie er die Verdauung bewerkstelligte (mit Chloroformzusatz?) gibt er nicht an. In den so dargestellten Lysinen soll die Bakteriensubstanz mit dem Verdauungsferment verbunden und dadurch unmittelbar den bekannten Hämo- und Bakteriolyse des Immunserums vergleichbar sein, da diese ja nach Ehrlich ebenfalls aus dem im tierischen Körper vorhandenen fermentartigen Komplement und einer durch Immunisierung entstehenden Zellensubstanz (Immunkörper) zusammengesetzt seien. Um auch den Lysinen, die durch Behandlung mit Glutaminsäure gewonnen werden, einen ähnlichen Bau zuschreiben zu können, spricht *Gamaleia* die Vermutung aus, bei ihnen würde die Fermentgruppe durch die Endotryptase der Bakterien selbst (§ 9) geliefert. Auch die in alten Kulturen auftretenden Zerfallsformen bezieht *Gamaleia* anscheinend auf die Wirkung dieser eigenen Bakteriolyse.

Die koagulierenden Einflüsse, (Kochhitze, Sublimat und Formalin) sollen nach *Gamaleia* die Chromatolyse (durch Koffein) aufhalten, während das Chloroform, das wohl in anderer Weise den Tod der Bakterien bewirkt, dazu nicht imstande ist.

§ 7. Pyocyranase. Die von *Gamaleia* mitgeteilten Beobachtungen genügen kaum, seine theoretischen Vorstellungen zu begründen, es fragt sich aber vor allem, ob sie den Tatsachen entsprechen. Eine gründliche Nachprüfung fehlt bisher. Indessen begegnen wir auch sonst ähnlichen Vorstellungen. Unabhängig von *Gamaleia* gelangten *Emmerich* und *Löw*¹⁾ namentlich auf Grund des Studiums der Vorgänge in alten Kulturen zu der grundsätzlichen Identifizierung der Bakteriolyse durch Immunsera mit der Selbstverdauung der Bakterien. In alten Kulturen seien es tryptische, das Nuklein auflösende Fermente (Nukleasen), z. B. die Pyocyranase,

1) Münchn. med. Wochenschr. 1898, 1433 und Zeitschr. f. Hyg. 31, 1899.

Typhase usw., die die Auflösung bewerkstelligen, im immunisierten Körper Kombinationen derselben mit Körperstoffen („Immunproteidine“). Wir kommen noch näher auf die Selbstverdauung zurück, wollen aber hier das Wesen eines von E m m e r i c h und L ö w dargestellten Präparates, der Pyocyanase¹⁾, erörtern, weil es nicht nur die eigenen, sondern auch fremde Bakterien sehr energisch löst oder wenigstens tötet und schon durch diese letztere Eigenschaft gegenüber Typhus-, Cholera-, Diphtherie-, Pestbazillen, Staphylokokken, sowie durch seine Hitzebeständigkeit von den gewöhnlichen Verdauungsfermenten abweicht. Genauere Angaben machten E m m e r i c h und L ö w zunächst nur über die bakteriziden Eigenschaften. Wir blieben daher im Dunkeln darüber, ob wirklich die Pyocyanase eine Bakteriolyse vergleichbar der Serumbakteriolyse oder Verdauung hervorruft. Nur für Milzbrandbazillen wiesen E m m e r i c h und S a i d a²⁾ auflösende Wirkungen nach. In einer späteren Arbeit machten E m m e r i c h und L ö w³⁾ dann genauere Angaben auch über die Möglichkeit, künstlich, d. h. im Reagenzglas durch Verbindung mit Körpereiweiß ihr Pyocyanase- und Erysipelase-(Rotlauf-)Immunproteid zu herzustellen. Leider bleibt es, da kein Versuchsprotokoll über die Wirkung angeführt wird, ganz zweifelhaft, ob das bloß kräftig immunisierende Stoffe sind oder solche, die dem Immunsérum durch ihre unmittelbar schützende oder heilende Wirkungen gleichgestellt werden können. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist das nicht der Fall, denn sonst hätte man jedenfalls von dem Ersatz des Immunsérum gegen Schweinerotlauf durch das Immunproteid mehr gehört. Der Beweis für die auch sonst ohne Erfolg versuchte künstliche Herstellung von Immunkörpern ist also auch von E m m e r i c h und L ö w nicht geführt worden. Damit ist wohl das Urteil gesprochen über ihre und G a m a l e i a s Vorstellung, ein von den Bakterien selbst gebildetes bakteriolytisches Ferment finde sich als ein Bestandteil des Immunsérum wieder. Im übrigen wurden die Angaben von E m m e r i c h und L ö w über die bakterizide und teilweise bakteriolytische Wirkung ihrer Pyocyanase, obwohl man die theoretische Erklärung meist angriff, mehrfach bestätigt.⁴⁾ Ebenso aber auch die Tatsache, daß es sich nicht um spezifische Leistungen

1) Alte Bouillonkulturen, filtriert, auf den 10. Teil eingedampft und dialysiert.

2) Zentralbl. f. Bakt. 27, 1900.

3) Zeitschr. f. Hyg. 36, 1901.

4) D i e t r i c h in Baumg. Arb. Tübing. path. Inst. 3, 345, 1901. Auch Habilit.-Schrift. V a e r s c h. Zentralbl. Bakt., 31, 304, T a v e r n a r i ebd. 792, K l i m o f f, Zeitschr. f. Hyg. 37, 1901.

handelt. Klimoff suchte dann weiter die Frage zu entscheiden, ob die Pyocyanase die Bakterien morphologisch in ähnlicher Weise verändert, wie Serumalexin. An Milzbrandbazillen konnte er damit zwar keine Lösungserscheinungen hervorrufen, wie Emmerich und Saida sie beschreiben, wohl aber eine Granulierung, die vielleicht der von Löwit geschilderten entspricht (§ 11). Diphtheriebazillen und Staphylokokken wurden gar nicht verändert. Typhus- und Cholerabazillen erlitten, allerdings erst nach 24 Stunden, stärkere Veränderungen, indem sie sich in Körner verwandelten, lückenhaft oder gar nicht färbten und mannigfache unregelmäßige Formen zeigten. Ein Vergleich mit der eigentlichen Bakteriolyse durch Serum schien Klimoff daher nicht statthaft. In einer Erwiderung bestritten Emmerich, Löw und Korschun¹⁾ aber diese Angaben und gaben Abbildungen von verschiedenen Bakterienarten, aus denen die außerordentlich schnelle und weitgehende Auflösung zu ersehen ist. Bilder von Cholerabazillen sind leider nicht darunter. Aber es wird angegeben, daß trübe Aufschwemmungen von Cholerabazillen in Pyocyanase schon nach wenigen Minuten geklärt werden. Podwysotski und Adamoff²⁾ sahen ferner umgekehrt die Diphtheriebazillen am schnellsten und vollständigsten (nach 2 Stunden) die Cholerabazillen etwas langsamer (nach 3—4 Stunden), den Colibazillus am unvollkommensten zugrunde bzw. in Lösung gehen. Man muß also wohl zugeben, daß eine Zellzerstörung der Pyocyanasebehandlung folgen kann, immerhin ist bei der Unbeständigkeit dieser Erscheinung die Frage berechtigt, ob die allgemein zugegebenen bakteriziden Wirkungen der Pyocyanase mit den „verdauenden“ zusammenfallen, und ob wir es bei der einen wie bei der anderen Wirkung überhaupt mit Enzymen oder Fermenten zu tun haben. Die Fermentnatur der Pyocyanase ist von Emmerich und Löw hauptsächlich deshalb angenommen worden, weil ihr neben den bakteriziden Wirkungen deutliche verdauende Kräfte gegenüber Fibrin und Eiweiß zukommen; und an der Berechtigung dieser Auffassung würde die von den Gegnern oft hervorgehobene Tatsache auch nichts ändern, daß die Pyocyanase hitzebeständig, ja kochfest ist, denn es gibt kochfeste Enzyme (§ 244). Die Deutung wird aber dadurch zweifelhaft, daß nach Emmerich, Löw und Korschun die tryptische Wirksamkeit der Pyocyanase schon durch viertelstündiges Kochen zerstört, die bakterizide und bakteriolytische aber erst nach 1½stündigem Aufenthalt im Dampf beeinträchtigt wird. Danach ist also die

1) Zentr. Bakt. 31. 10, 1902.

2) Ebd. 50, 1909.

Lösung der Bakterien durch die Pyocyanase nicht mit ihrer Verdauung identisch. Großen Wert legt E m m e r i c h auf die übrigens von K l i m o f f bestrittene agglutinierende und ebenso auf die antitoxische Wirkung der Pyocyanase als Beweis ihrer Fermentnatur. Wir sehen nicht ein, warum. Beide Arten von Leistungen sind ja gewöhnlich keine fermentativen.

§ 8. **Lipoide.** Es bleibt also wesentlich nur die gegenüber manchen Bakterien hervortretende lösende Wirkung der Pyocyanase bestehen, aber diese braucht auch nicht durch ein Ferment bewirkt zu werden, denn wir kennen sie auch an anderen, sicher von den Fermenten zu scheidenden Stoffen. Während Alkalien (s. u. § 13) in der Pyocyanase nicht in Betracht kommen, haben R a u b i t s c h e k und R u ß¹⁾ an L i p o i d e gedacht, denen nach einer ganzen Reihe von Forschern keimtötende und -lösende Eigenschaften zukommen. In der Tat ließen sich die wirksamen Bestandteile der Pyocyanase durch Alkohol, Äther, Benzol, Benzin, Azeton, Petroläther und Chloroform fast vollständig von ihnen trennen, und ähnliche Stoffe auch unmittelbar aus den Leibern der Pyocyaneusbazillen gewinnen. Danach hat es also große Wahrscheinlichkeit für sich, daß sich die bis dahin rätselhafte Leistung der Pyocyaneusbazillen mindestens zum Teil auf diese Weise erklärt. Warum sich die einzelnen Bakterienzellen bzw. Stämme in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Abtötung und namentlich gegen Auflösung so verschieden verhalten, wäre aber noch festzustellen (§ 15). Außerdem fehlt eine genaue Bestimmung ihres „Lipoides“ noch hier wie in vielen anderen Fällen. So kann man zwar die zytolytischen²⁾ (hämolytischen) und bakteriziden³⁾ Wirkungen hitzebeständiger Organ- und Zellextrakte, sowie die entsprechenden Wirkungen von Bakterien-, Pilz- und Protozoenextrakten⁴⁾ mit einem gewissen Recht auf Lipoide zurückführen und will sogar die hitzeempfindlichen hämo- und bakteriolytischen Stoffe des Serums (Komplements) in irgend-eine Beziehung zu Lipoiden bringen⁵⁾, kann aber vorläufig nicht die Natur derselben angeben. In anderen Fällen ist das aber möglich ge-

1) Wiener klin. Wochenschr. 1908, 8 und 23, Zentralbl. f. Bakt. 48. 114, 1908. Vgl. dagegen E m m e r i c h und L ö w in Wiener klin. Woch. 36. 1908.

2) K o r s c h u n und M o r g e n r o t h, Berl. klin. Wochenschr. 1902, L a n d s t e i n e r und H. E h r l i c h, Zentr. Bakt. 45. 247, 1908. Literatur.

3) L a n d s t e i n e r und E h r l i c h, ebd. Lit.

4) L a n d s t e i n e r u. R a u b i t s c h e k, ebd. 660, R a u b i t s c h e k ebd. 46, 508. F u k u h a r a, Arch. Hyg. 71, 1909, Lit. Vgl. C e r o s i n § 26.

5) S. bei L a n d s t e i n e r und E h r l i c h, ferner P o r g e s, in K r a u s und L e v a d i t i, Handb. 2. 1162, 1909.

wesen. So kennt man schon lange die entwicklungshemmende und keimtötende Kraft der Galle für manche Bakterien. Neufeld¹⁾ fand weiter, daß die Galle aller möglichen Tiere frisch oder gekocht noch in Verdünnungen von 1 : 10—20 Pneumokokken binnen 3 bis 20 Minuten oder auch etwas später fast vollständig löste, ohne daß vorher eine Formveränderung erfolgte. Nur ein Pneumokokkenstamm widerstand, ebenso blieben ungelöst alle daraufhin geprüften Bakterien, wie Milzbrand, Cholera, Typhus, Bact. coli, Pyocyaneus, Diphtherie, hämorrhagische Septikämie, Rotlauf, Staphylokokken und Streptokokken, ja wuchsen sogar meist in der Galle. Neufeld macht ferner darauf aufmerksam, daß die Galle auch die Erreger der Rinderpest (R. Koch) und der Hundswut (Vallée) abtöte, und daß der wirksame Bestandteil wahrscheinlich die Gallensäure bzw. die Cholalsäure sei. Die meisten Forscher bestätigten diese Befunde Neufelds, nur daß Mandelbaum²⁾ und R. Levy³⁾ dieselbe Löslichkeit durch Galle und gallensaure (taurocholsaure) Salze auch bei dem nahe verwandten Strept. mucosus fanden, und für die übrigen Streptokokken die Galle sich wenigstens als bakterizid oder entwicklungshemmend erwies.⁴⁾

Ebenso verhalten sich nach Neufeld, v. Prowazek⁵⁾ und Händel⁶⁾, Levaditi und Rosenbaum⁷⁾ Spirochaeten und Trypanosomen, sowie andere Protozoen gegen gallensaure Salze, Saponin, Kobragift und Kobralezithide, reine Oleinsäure und oleinsaures Natron und die aus Pankreas- und Lymphdrüsenextrakt gewonnenen Fettsäuren und fettsauren Salze, die daher vielleicht als die wirksamen Bestandteile in Organauszügen zu betrachten sind. Da dieselben Stoffe im allgemeinen die Bakterien und im besonderen die Spirillen nicht lösen, glauben die genannten Forscher in ihnen Reagentien gefunden zu haben, die es gestatten, Bakterien von Protozoen und filtrierbaren Virus zu unterscheiden, und sind geneigt, die Spirochaeten darum den Protozoen anzureihen. Unseres Erachtens ist dieser Schluß schon wegen des abweichenden Verhaltens echter Bakterien von der Regel nicht erlaubt⁸⁾. Es gehört dazu nicht nur der

1) Zeitschr. Hyg. 34, 1900.

2) Münch. med. Wochenschr. 1907, 29.

3) Virch. Arch. 187, 1907.

4) Vergl. Lit. bei Vetrano, Zentr. Bakt. 52, 1909.

5) Arb. k. Gesundheitsamt 25. 510, 1907.

6) Ebd. 28. 572, 1908.

7) Ann. Pasteur 1908.

8) Vgl. auch im letzten Abschnitt dieses Buches das über die Stellung der Spirochaeten gesagte (§ 359).

Pneumokokkus. So hat F i c k e r¹⁾ beobachtet, daß zwar der *Diplococcus crassus* (J ä g e r s Meningokokkus) von Galle nicht gelöst wird, wohl aber der echte Meningokokkus. Ich selbst habe neuerdings mit S c h r e i b e r gefunden, daß auch andere Bakterien, wie z. B. Milzbrandbazillen und Choleravibrionen von Galle mindestens sehr stark angegriffen werden. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung der Galle und anderer Lipide sind in meinem Laboratorium im Gange. In der Literatur finden sich darüber manche Unstimmigkeiten. So haben, um von den Angaben über Pyocyánase ganz abzusehen (§ 7), L a n d s t e i n e r und E h r l i c h (s. o.) eine starke bakterizide Wirkung der Ölsäure und ihrer Salze auf Milzbrand- und Massauavibrionen festgestellt, auf eine lösende Wirkung dabei freilich nicht geachtet. In den Versuchen von L e v a d i t i und R o s e n b a u m erwiesen sich umgekehrt die gleichen Stoffe für Cholerabazillen ganz unwirksam. Lezithinaufschwemmungen sollen nach B a s s e n g e²⁾ Typhusbazillen zur Auflösung bringen, und zwar in frischem Zustand langsam, in älterem schnell; nach D e y c k e und M u c h³⁾ lösen sie zwar *Coli* und Anthraxbazillen nicht, töten sie aber,⁴⁾ beeinflussen Staphylokokken anscheinend gar nicht, lösen aber wiederum manche Stämme von Tuberkelbazillen. S l e e s w y k⁵⁾ endlich führt die sehr unbeständige Wirkung des Lezithins auf Beimengung freier Fettsäuren zurück. Ebenso bestreitet L ö w e n s t e i n⁶⁾ die Angaben von D e y c k e und M u c h, daß Cholin und Neurin Tuberkelbazillen auflöse.

Ferner beobachtete N o c⁷⁾ eine kräftigere bakteriolytische Wirkung des Kobragiftes auf asporogene Milzbrandbazillen, Choleravibrionen, Eiterstaphylokokken, Diphtheriebazillen, junge Heubazillen, als auf Trypanosomen, die freilich von einer 1 prozentigen Giftlösung auch schon nach 30 Minuten gelöst wurden. Die Hülle der Bakterien

1) Arch. f. Hyg. 68, 1908.

2) Deutsch. med. Woch. 1908, 29. Vgl. F u k u h a r a, Arch. Hyg. 71, 398.

3) Medizin. Klin. 1908, 40.

4) In Lezithinnährböden sollen aber nach P o d w y s s o t z k y und T a r a n o u c h i n e (Annal. Past. 1898, 508) Milzbrandbazillen wachsen, allerdings „plasmolysiert“, so daß man deutlich die (nicht aus Zellulose bestehende) Membran sehen kann. Auch sonst werden lezithinhaltige Stoffe, wie z. B. Gehirn, als gute Nährböden betrachtet. Über Äther, Alkohol, Chloroform und namentlich Benzoylchlorid als Lösungsmittel für säurefeste Bazillen vgl. Bakterienfette § 22 und 26.

5) D. med. Woch. 1908, 52.

6) Zentr. Bakt. 53, 1910.

7) Annal. Past. 1904, vgl. auch C a l m e t t e in K o l l e - W a s s e r - m a n n s Handb., 2. Erg.-Bd. 263, 1908.

scheint sich dabei zuerst aufzulösen, dann der Leib und schließlich die Körnchen im Inhalt. Bei *Bact. coli* und Typhusbazillen ist die Erscheinung weniger deutlich, fehlt fast ganz bei *Pyocyaneus* und *Prodigiosus* und vollständig bei Tuberkelbazillen. Durch Erhitzung auf 60° wird die Löslichkeit nach *Calmette* erheblich herabgesetzt. Mit der verdauenden Eigenschaft der Gifte hat die lösende nichts zu tun, weil die erstere bei 85° sofort verschwindet, die letztere erst nach halbstündiger Behandlung. Ebenso wenig fällt die lösende Fähigkeit des Schlangengiftes etwa mit der der Serumalexine zusammen, die eine hebt vielmehr die andere auf. Nach *Levaditi* und *Rosenbaum* wäre freilich auch die Wirkung des Giftes auf rote Blutkörper, Protozoen und Spirochäten verschieden von der auf andere Bakterien, die erstere ginge überhaupt nicht durch Erhitzung auf 85° verloren. Leider fehlt eine Prüfung der Meningo- und Pneumokokken gegenüber diesem Gift.

Erwähnt sei schließlich noch, daß das *Glycerin*, das freilich nicht eigentlich zu den Lipoiden zu rechnen ist, umgekehrt Bakterien im allgemeinen stärker angreift als Protozoen, einschließlich der Chlamydozoen und filtrierbaren Virus. Das entspricht der Tatsache, daß es die ersteren nicht, die letzteren wohl plasmolysiert, also dort schneller, hier langsamer eindringt.

Aus diesen Angaben ergibt sich, daß vorläufig Gesetzmäßigkeiten, die eine scharfe Trennung ermöglichen, in dem Verhalten der Protozoen und Bakterien gegen „Lipoide“ nicht bestehen. Es ist aber vielleicht dennoch die von *Neufeld* u. a. ausgesprochene Vermutung berechtigt, daß diejenigen Mikrobenarten oder -Stämme — denn es scheinen Unterschiede bei einer und derselben Art vorzukommen —, die der völligen Auflösung durch dieses oder jenes Lipoid unterliegen, ebenso wie die Protozoen oder tierischen Zellen dadurch eher eine besondere chemisch-physikalische Beeinflußbarkeit ihrer Haut oder der als solche dienenden plasmatischen Grenzsicht als ihres Plasmas selbst beweisen. Genau diese Beschaffenheit zu bestimmen, dazu fehlen uns freilich vorläufig die Mittel. Die in dieser Beziehung namentlich für höhere Zellen entwickelten Theorien (*H. Meyer*, *Overton*, *Nathanson*) sind nicht ausreichend.¹⁾

§ 9. Selbstverdauung. Unter den übrigen, eine völlige Lösung der Mikroben bewirkenden Mitteln ist vor allem die eigentliche *Verdauung* zu nennen. Wir betrachten an erster Stelle die sogenannte Selbstverdauung, weil ohne ihre Kenntnis der Einfluß der künstlichen Verdauung durch zugesetzte Enzyme nicht genügend sicher fest-

1) Vgl. *Höber*, Physikal. Chemie der Zellen und Gewebe, 2. Aufl., 1906.

gestellt werden kann. Bei der am längsten bekannten Selbstverdauung (Autodigestion, Autolyse) der Hefe — über die chemischen Vorgänge soll später (§ 166) berichtet werden — bleibt die Zellwand erhalten, weil sie offenbar dem verdauenden Enzym, der von H a h n und G e r e t sogenannten Endotryptase, Widerstand leistet. Das Plasma erfährt aber innerhalb der Zellen eine tiefgehende Auflösung, die sich auch durch den Austritt großer Mengen seiner Substanz aus den Zellen äußert. Die Bedingungen für die Selbstverdauung der Hefe verdienen noch näher studiert zu werden; diese scheint überall zu fehlen, wo die Zellen in Vermehrung oder in lebhafter Gärtätigkeit begriffen sind, und setzt umgekehrt ein, wenn diese Voraussetzungen fehlen und gleichzeitig eine zu niedrige oder zu hohe Temperatur der Wirksamkeit der Endotryptase nicht im Wege steht, namentlich dann also, wenn die Hefe in nährstofffreier oder -armer Flüssigkeit aufgeschwemmt ist. Der äußere Anstoß zur Selbstverdauung liegt also wohl im N a h - r u n g s m a n g e l bzw. in dem dadurch bedingten Z e l l t o d. Darum beginnt sie auch sofort bzw. wird verstärkt, wenn man die Zellen durch schwache Antiseptika, wie Chloroform, Thymol, Toluol, Salizylsäure, 0,1 prozentiges Formaldehyd, 1 prozentige Blausäure tötet, während starke Antiseptika, die auch die Endotryptase schädigen (3% Karbolsäure, 0,1% Sublimat, Temperaturen über 60°), die Selbstverdauung hemmen oder aufheben. Bei anderen Pilzen haben wir ähnliche Verhältnisse zu erwarten. Bei Bakterien sind Vorgänge, die wir jetzt als autolytische bezeichnen müssen, ebenfalls lange bekannt, wenn auch nicht als solche erkannt. So beobachteten K r u s e und P a n s i n i¹⁾, daß die Pneumokokken, nachdem ihr Wachstum in Bouillon aufgehört hat, aus den Kulturen unter Zurücklassung geringer Spuren verschwinden. Bei anderen Bakterien pflegt ähnliches in älteren Kulturen vorzukommen, nur in weniger ausgedehntem Maße oder nach längerer Zeit. Die Meningo- und Gonokokken kommen den Pneumokokken am nächsten: schon nach wenigen Tagen beginnt hier, wie Färbungen zeigen, die Auflösung der Bakterien. Die gleichen Erscheinungen in alten Pyocyaneus-, Milzbrand-, Typhuskulturen usw. führten dann E m m e r i c h und L ö w zu ihren im § 7 erwähnten Vorstellungen über Selbstverdauung der Bakterien und zur Entdeckung der Pyocyanase. Im Anschluß an ihre erste Arbeit und die Darstellung G a m a l e i a s (§ 6) erschienen genauere Untersuchungen über die Bedingung der Selbstverdauung der Milzbrandbazillen von seiten M a l f i t a n o s²⁾ und D a n y s z'³⁾. Der erstere zeigte, daß die

1) Zeitschr. Hyg. 11, 314.

2) Compt. rend. ac. sc. 131. 293, 1900.

3) Annal. Past. 1900.

Selbstverdauung dieser Bazillen in destilliertem Wasser ausbleibt, wenn die Bazillen vorher auf 65° erhitzt werden, dagegen eintritt, wenn sie bei 55—60° abgetötet worden sind, oder wenn sie bei 45° aufbewahrt werden. In jeder beliebigen Flüssigkeit erfolgt ferner die Verdauung, wenn die Lebensfähigkeit der Bazillen nicht durch höhere Temperaturen, sondern durch Zusatz von Chloroform¹⁾, Xylol oder Thymol beeinträchtigt oder aufgehoben wird. Nach M a l f i t a n o s sehr berechtigter Vorstellung liegt die Ursache darin, daß endotryptische Fermente (die „Protease“) nur wirksam sind, wenn die normale Lebenstätigkeit der Bakterien ausgeschaltet, nicht vernichtet wird. Ferner finden wir bei M a l f i t a n o die wichtige Bemerkung, das Koffein, die Pyocyranase usw., die in den Versuchen von G a m a l e i a , E m m e r i c h und L ö w die Lösung der Bakterien verursacht haben, wirken in ähnlicher Weise, d. h. nur dadurch, daß sie die Lebensfähigkeit der Bakterien beeinträchtigen und so deren eigener Verdauungstätigkeit Spielraum gewähre. D a n y s z hat diese Erfahrungen bestätigt und unter demselben Gesichtspunkt die Bakteriolyse der Milzbrandbazillen im Rattenserum studiert. Nach ihm erfolgt die Lösung dieser Bakterien ungefähr in gleicher Weise, ob man sich eines aktiven Serums bedient, oder eines seiner Alexine durch Erhitzung oder Absättigung mit Bakterien beraubten, aber mit Chloroform versetzten²⁾ Serums, bzw. einer anderen Flüssigkeit bedient, die durch Zusatz von Antiseptics als Nährboden unbrauchbar geworden ist. Die Voraussetzung sei nur, daß das Antisepticum nicht das autolytische Ferment zerstöre. So fehle denn die Bakteriolyse ebensowohl im aktiven Serum als in den übrigen Medien, wenn die Bazillen durch starkes Erhitzen oder Säuren abgetötet werden. Nach D a n y s z wirkt also das Alexin nur abtötend wie die Antiseptika, während die Bakteriolyse durch das eigene Ferment der Bakterien verursacht wird. Die Zusammensetzung des Mediums ist im allgemeinen von Einfluß auf die Schnelligkeit und Ausdehnung der Selbstverdauung: am größten ist sie im Serum, geringer in Peptonbouillon und am geringsten in destilliertem Wasser und Kochsalzlösung; in saurer Lösung fehlt sie. Unter Umständen tritt in denselben Mitteln Bakteriolyse und Wachstum neben oder nacheinander auf, indem nämlich die durch Selbstverdauung schon zugrunde gegangenen Bakterien den übrig

1) M a l f i t a n o machte später (Annal. Past. 1902. 646), die noch unerklärte Beobachtung, daß Chloroform (nicht andere Antiseptica) bei Abwesenheit von Sauerstoff die Autolyse verhindert.

2) So ist vielleicht auch die Wirkung der Preßsäfte aus Organen, Eigelb und Eiweiß, die T u r r ò (Zentr. Bakt. 32. 105, 1902) nach Zusatz von 2% Fluornatrium beobachtete, zu deuten.

gebliebenen den Nährboden dadurch verbessern, daß sie entweder — in reinem destillierten Wasser und Kochsalzlösung — bei der Auflösung Nährstoffe abgeben oder — im aktiven nicht zu kräftigen Serum — die Alexine neutralisieren.

Wir kommen auf diese Vorstellungen, die der Selbstverdauung auch eine ausschlaggebende Bedeutung bei der Serumbakteriolyse zuschreiben, später noch zurück und wollen hier nur betonen, daß sie bei der Erklärung der Auflösungserscheinungen, die wir unter dem Einfluß aller möglichen entwicklungshemmenden oder keimtötenden Stoffe, namentlich auch der Lipoide beobachten, wohl Berücksichtigung verdient. Eine Entscheidung der Frage, ob die letzteren allein oder unter Mitwirkung selbstverdauender Enzyme die früher besprochenen Veränderungen hervorrufen, wird wohl nur von Fall zu Fall an der Hand des morphologischen und chemischen Studiums der Selbstverdauung zu geben sein. Von den chemischen Nachweisen, die bisher für die Bakterien seit den Arbeiten von H a h n und G e r e t geliefert worden sind, handeln wir später (§ 166). Die morphologischen Verhältnisse habe ich durch vergleichende Untersuchungen, die ich in jüngster Zeit, mit S c h e r m a n n und S c h r e i b e r¹⁾ zusammen an einer großen Zahl von Bakterien vorgenommen habe, aufzuklären gesucht. Wir fanden dabei ganz erhebliche Unterschiede²⁾ zwischen den einzelnen Bakterienarten. Wurden Aufschwemmungen von frischen Agarkulturen (je eine Schrägkultur auf 5—10 ccm Kochsalzlösung) mit Chloroform (oder Toluol) versetzt im Brutschrank gehalten, so zeigten einige (grampositive) Bakterien, wie Staphylokokken und Megatherium, nach 24—48 Stunden keine Veränderung ihrer Aufschwemmungen für das bloße Auge und auch unter dem Mikroskop keine Abweichungen von der gewöhnlichen Form und Färbbarkeit. Eine schwache Aufhellung der Trübung, aber keine deutlich nachweisbare mikroskopische Veränderung trat ein bei den von uns geprüften Kulturen der Enteritis- und Proteusbazillen und manchmal auch bei Coli- und Dysenteriebazillen. In anderen Fällen waren die Aufschwemmungen der letzteren, ebenso wie die der Pseudodysenterie-, Typhus-, Paratyphus-, Pneumoniebazillen deutlich aufgeklärt, die Bazillen selbst schwächer färbbar und wohl zum kleinen Teil ganz aufgelöst. Sehr viel stärker war die Lösung beim *Fluorescensliquefaciens* und namentlich beim Milzbrand, *Prodigiosus*, *Pycocyaneus*, *Cholera*bazillus, sowie bei Meningo- und Pneumokokken. Die mikroskopischen Veränderungen gingen dabei sehr weit, zum Teil bis zum völligen Verschwinden der Bakterien.

1) Die Arbeit erscheint im Laufe des Jahres 1910.

2) Vgl. Stab I der Tafel II in § 10.

Die Auflösung begann schon nach wenigen Stunden. Auch wenn das Chloroform weggelassen wurde, war die Selbstverdauung bei vielen der Bakterien annähernd ebenso kräftig, wahrscheinlich deswegen, weil die Kochsalzlösung allein die Keime schon erheblich schädigte. Wurden die Bakterien durch Erhitzung auf 60—100° abgetötet oder dauernd bei niedrigen Temperaturen gelassen, so blieb die Lösung ganz oder fast ganz aus. Durch die hohe Temperatur werden offenbar das oder die Enzyme der Selbstverdauung ebenfalls zerstört oder geschädigt und durch niedere Temperaturen in ihrer Tätigkeit gelähmt. Wir halten diese für die wichtigste Ursache der Lösung; ob nicht manchmal aber noch andere nicht enzymatische Stoffe (Lipoide § 8) beteiligt sind, wollen wir vorläufig dahingestellt sein lassen. Die Möglichkeit, daß auch verdauungshemmende Einflüsse daneben in Betracht kommen, ist ebenfalls gegeben. Ob man aber von Antifermenten (s. u. § 10) sprechen darf, ist recht zweifelhaft. Sicher setzen lebenskräftige Bakterien unter günstigen Bedingungen der Selbstverdauung erfolgreichen Widerstand entgegen. Schon der Nahrungsmangel schwächt sie aber so, daß die Lösung eintreten kann. Sehr schön zeigt das ein von uns wiederholter Versuch Fickers¹⁾. Wenn man Cholerabazillen aus einer frischen Agarkultur vom Nährboden abnimmt und ohne jeden Zusatz in eine feuchte Kammer bringt, sterben die Keime namentlich bei 37° schnell ab. Ficker führt das auf eine Art Selbstverbrennung zurück. Auch wir wollen oxydative Vorgänge keineswegs ausschließen. Die mikroskopische Prüfung zeigt uns aber, daß dabei die Lösung in derselben Weise eintritt, wie nach Ausschaltung der Lebenstätigkeit durch Chloroform und nach Behandlung mit Verdauungsenzymen (s. u.). Daraus und aus der Wirkung der gleichzeitig gebildeten schädlichen Stoffwechselerzeugnisse (§ 47) erklären sich auch die oben erwähnten Auflösungserscheinungen in alten Kulturen. Das verschiedene Verhalten der einzelnen Bakterienarten und -stämme wird wohl auf die ungleiche Ausstattung mit Selbstverdauungsenzymen oder deren ungleiche Widerstandsfähigkeit zurückzuführen sein. Über den Mechanismus, durch den die Lebenstätigkeit die Selbstverdauung verhindert, können wir wenig aussagen.²⁾

§ 10. Verdauung. Nachdem wir so die Erscheinungen der Selbstverdauung kennen gelernt, können wir zu der Erörterung des Einflusses der Verdauungsfermente schreiten. Daß dieser gegenüber lebenden Kleinwesen nur gering ist, hat man schon lange aus dem

1) Zeitschr. f. Hyg. 29. 27, 1898.

2) Vgl. § 67 am Schluß, § 92 und § 166.

Vorkommen von Bakterien und Protozoen im Darminhalt und aus dem Verhalten von Bakterien gegenüber Darmsekreten¹⁾ im Reagenzglas erschlossen. Schon einige ältere Beobachtungen von G a m a l e i a (§ 6), S i e g w a r t²⁾, und M o u t o n³⁾ lehrten aber, daß durch Chloroform, Säure, Hitze, Trocknen, destilliertes Wasser abgetötete Bakterien durch die Verdauung viel stärker angegriffen wurden. Neuerdings wurde die Frage, und zwar von verschiedenen Seiten und unabhängig voneinander, wieder aufgenommen. Eine Mitteilung von J o c h m a n n⁴⁾ besagt, daß lebende Typhus- und Colibazillen von einem tryptischen Leukozytenferment nicht geschädigt, aber ebenso schnell wie Fibrin oder Eiweiß aufgelöst werden, wenn sie durch Chloroform oder Temperaturen von 65—70° abgetötet sind. Der Versuch, ein „Antiferment“ in den lebenden Bakterien dafür verantwortlich zu machen, gelang nicht, wenn es auch auffiel, daß zuweilen ein Zusatz von Bakterienkulturen zu Eiter dessen Verdauungskraft abschwächte. F e r m i⁵⁾ kam zu ähnlichen Ergebnissen: lebende Bakterien (und Pilze) verschiedener Art wurden durch Trypsin (und Pepsinsalzsäure) nicht beeinflußt, zeigten aber bei Zusatz von 1% Karbolsäure mit Ausnahme von Staphylokokken und Tetragenus mehr oder weniger deutliche Zeichen der Lösung⁶⁾. Die Fermente ihrerseits wurden durch Mikroben nicht angegriffen, mit Ausnahme des Pepsins⁷⁾, auf welches die Mikrobenprodukte (karbolisierte Bouillonkulturen) eine antipeptische Wirkung auszuüben schienen⁸⁾. D e W a e l e⁹⁾ verglich die Veränderungen, die zahlreiche durch Chloroform-Azeton abgetötete Bakterienarten erlitten, wenn sie unerhitzt oder auf 55—100° erhitzt, bei 37° einer 0,2 prozentigen Trypsinlösung 3—12 Stunden ausgesetzt wurden. Nach Ausweis der beigegebenen Tabelle wurden die meisten von ihnen nach Erhitzung auf 75—100° viel vollständiger gelöst, als diejenigen, die nied-

1) Vgl. z. b. F e r m i, Zentr. Physiol., 1895, 21. Vollst. Literatur in der Infektionslehre.

2) Arbt. d. pathol. Inst. Tübingens 3. 277. (Pepsin und Trypsin).

3) Ann. Pasteur 1902. 489 (Amöbenferment).

4) Zeitschr. f. Hyg. 61, 1908.

5) Zentr. Bakt. 52. 252, 1909.

6) 3 Ösen Agarkultur wurden dabei auf 10 ccm Pepsin (1:1000) oder Trypsin (1:150) oder Papain (1:200) verteilt und nach 5 Tagen untersucht.

7) Vgl. Papasotiriu, Arch. f. Hyg. 57.

8) Nach Charrin und Le Play (Compt. rend. ac. sc. 141. 75, 1903) sollen aber Bakterien, z. B. Heubazillen, Papain so fest binden, daß es aus ihnen auf dem Filter nicht ausgewaschen werden kann. Wir selber beobachteten auch eine Bindung von Trypsin durch Bakterien (s. im Text)

9) Zentr. Bakt. 50. 40, 1909. Meist wurden 1—2 wöchentl. Bouillonkulturen benutzt.

rigeren Temperaturen ausgesetzt oder nicht erhitzt worden waren. Am wenigsten (unerhitzt oder auf 55° erhitzt gar nicht) angegriffen wurden Tetrigenus, Streptokokken, Staphylokokken (mit Ausnahme von hämolytischen) und Meningokokken (?), am stärksten (meist auch etwas unerhitzt oder auf 55° erhitzt) Typhus, Paratyphus, Coli, Enteritis, Vibrio Metschnikoff und Nasik, Megatherium (?). Die Hemmung der Verdauung soll durch eine bei 75—100° zerstörte „Antiprotealase“ bewirkt werden. Vibrio Finkler, Pyocyaneus, Proteus, Prodigiosus, Fluorescens und Anthrax wurden umgekehrt stärker gelöst in unerhitztem Zustande oder auf 55° erhitzt, als gekocht. De W a e l e will diese Unterschiede daraus erklären, daß mit der Antiprotealase selbstverdauende proteolytische Wirkungen in den Kulturen selbst in Wettbewerb traten.

Seit Ende 1908, also unabhängig von diesen Forschern, wurden in meinem Laboratorium Untersuchungen über Verdauung von Bakterien vorgenommen. Zunächst fand K a n t o r o w i c z¹⁾, daß die gramnegativen Bakterien (der Coli- und Vibrionengruppe) erst durch Erhitzung auf 75—80° und mehr ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber der Verdauung durch Trypsin verlustig gingen, was durch das Vorhandensein eines auch in Lösung zu erhaltenden Antiferments erklärt wurde. Andere Arten der Abtötung, z. B. durch Chloroform, Karbol, Erhitzen auf 60—70°, wären nicht imstande, die Verdauung zu ermöglichen, die Ausschaltung der Lebenstätigkeit hätte also nichts mit der Verdaulichkeit zu tun. Grampositive Kokken und Bazillen, Staphylokokken, Streptokokken, Sarzine, Diphtherie, Milzbrand würden andererseits selbst durch Kochen nicht für die Verdauung vorbereitet.

Einige Unstimmigkeiten in den Ergebnissen K a n t o r o w i c z s und der älteren Forscher bewogen mich, die Frage weiter zu verfolgen und die Verdauung zusammen mit der Selbstverdauung (s. o. § 9) genauer zu studieren. Die von mir selbst, S c h e r m a n n und S c h r e i b e r gemachten Versuche ergaben noch verwickeltere Verhältnisse, als sie die übrigen Arbeiten festgestellt. Verhältnismäßig einfach lagen die Dinge allerdings bei der Pepsinsalzsäureverdauung. Aus der folgenden Übersicht, die sich hauptsächlich auf Versuche S c h e r m a n n s stützt, ist zu entnehmen, daß die meisten Bakterien im unerhitzten Zustand — in Kochsalzlösung aufgeschwemmt — sehr widerstandsfähig gegen künstlichen Magensaft sind: sie zeigen nach 48 stündiger Behandlung mit 1 prozentiger Lösung keine Veränderung. Ausnahmen kommen allerdings vor, so wurden Prodigiosus- und Proteusbazillen schwach, Cholera stärker angegriffen. Nach Erhitzung

1) Münch. med. Woch. 1909, 18.

auf 60°, 70°, manchmal erst nach solcher auf 90—100° zeigte sich aber bei den gramnegativen Bakterien eine mehr oder weniger deutliche, ja selbst starke Lösung. Die grampositiven Bakterien wurden dagegen überhaupt nicht verändert.

Tafel I. Verdauung mit Pepsinsalzsäure.

	Unerhitzt	60°	70°	80°	90°	100°
Dysenterie	0	0	0	0	(††)	††
Typhus	0	0	0	†	††	††
Paratyphus	0	0	0	0	(†)	(†)
Coli	0	0	(†)	(†)	†	†
Cholera	††	††	.	.	.	††
Proteus	†	†	††	††	††	††
Enteritis	0	0	(†)	(††)	††	††
Pneumoniebaz.	0	0	(†)	†	†	†
Prodigiosus	†	(†††)	(†††)	(†††)	(†††)	(†††)
Pyocyaneus	.	(††)	(††)	(††)	(††)	(††)
Meningokokkus	.	(††)	(††)	(††)	(††)	(††)
Milzbrand	0	0	0	0	0	0
Megatherium	0	0	0	0	0	0
Staphylokokken	0	0	0	0	0	0

In 1%iger Trypsinlösung ergaben sich dagegen die in Tafel II zusammengestellten Verhältnisse:

Tafel II. Selbstverdauung und Trypsinverdauung.

	Selbstverdauung mit Chloroform, unerhitzt	Trypsin mit Chloroform, unerhitzt	Trypsin mit Chloroform 60°	80°	100°
Dysenterie	(†)	††	0	†††	†††
Typhus	(†)	††	0	††	†††
Paratyphus	(†)	†††	0	†††	†††
Coli	0	(††)	0	†††	†††
Cholera	†††	†††	(†)	†††	†††
Proteus	(†)	††	†††	†††	†††
Fluorescens non liq.	(††)	(†††)	†	†††	†††
Enteritis	(†)	††	††	†††	†††
Pneumoniebaz.	†	††	††	††	†††
Prodigiosus	††	††	(†††)	†††	†††
Pyocyaneus	††	††	††	†††	†††
Meningokokkus	(††)	†††	†††	†††	†††
Pneumokokkus	††	†	†††	†††	†††
Milzbrand	††	††	†	(†)	0
Megatherium	0	0	0	0	0
Staphylokokken	0	0	0	0	0

Anm.: 0 bedeutet keine Lösung, (†) Spur, † schwache, (††) deutliche, †† starke, (†††) fast vollständige, ††† vollständige Verdauung.

Nicht angegeben ist in der vorstehenden Tafel das Ergebnis der Verdauung lebender Bazillen mit Trypsin, weil es stets das gleiche war: es fehlte jede Verdauung der lebenden Keime in Trypsinlösung, öfter trat sogar ein deutliches Wachstum ein, offenbar weil die Lösung ein Nährboden war. Sobald die Lebensfähigkeit der Bakterien aber durch Chloroform (5%) ausgeschaltet war, wurde das Bild ein anderes: meist setzte jetzt die Verdauung, und zwar meist recht kräftig, ein; noch kräftiger war sie, ja, ging gewöhnlich bis zur völligen Lösung, wenn die Bakterien nicht durch Chloroform, sondern durch Erhitzung auf 80—100 abgetötet waren. Nach Erhitzung auf 60° waren die Veränderungen dagegen ungleichmäßig, indem die Lösung bald eintrat, bald fehlte oder geringer war. Wie soll man sich die Ungleichheiten erklären? Vergleicht man zunächst Stab 2 mit Stab 1 der Tafel, in der die Ergebnisse der Selbstverdauung mit Chloroform mitgeteilt sind, so sieht man, daß durch Beigabe des Trypsins die Lösung, wo sie vorher überhaupt bestand, nicht deutlich verstärkt wurde, und wo sie nicht bestand, entweder, wie bei Colibazillen, in geringem Grade erfolgte, oder wie bei Megatherium und Staphylokokken ausblieb. Die ebenfalls grampositiven Milzbrandbazillen wurden mit oder ohne Trypsin gleich gut gelöst, die grampositiven Pneumokokken sogar anscheinend bei Gegenwart von Trypsin weniger verändert. Man bekommt dadurch den Eindruck, als ob die gramfesten Bakterien, auch wenn sie abgetötet sind, durch Trypsin nicht angegriffen werden, während das bei der gramnegativen regelmäßig, und zwar in viel erheblicherem Grade der Fall ist, als bei der Pepsinsalzsäureverdauung. Wenn die Abtötung durch Kochen erfolgt, ist das Ergebnis noch klarer: da fehlt jede Lösung bei den gramfesten Bakterien, auch der Milzbrandbazillus wird jetzt nicht mehr angegriffen. Den Grund dafür kann man wohl darin sehen, daß das Selbstverdauungsenzym durch Kochen vernichtet wird. Auch andere gramfeste Keime, wie *Bac. subtilis*, *racemosus*, Streptokokken und Diphtheriebazillen, Strahlenpilze, Hefen, Oidien, säurefeste Bakterien werden nach neueren Feststellungen Schreibers in gekochtem Zustand von Trypsin nicht verändert, während umgekehrt alle gramnegativen Bakterien, auch zahlreiche andere, in der Tafel nicht aufgeführte, wenn sie gekocht sind, völlig oder fast ganz aufgelöst werden. Nur der Pneumokokkus macht eine Ausnahme von der Regel. Ob sich das dadurch erklärt, daß sein Selbstverdauungsenzym ausnahmsweise durch Erhitzen nicht verändert wird, oder ob bei ihm besondere auflösende Kräfte (vgl. Lipaide § 8) mitwirken, können wir vorläufig nicht sagen. Die Erhitzung auf 80° hat fast den-

selben Einfluß, wie die auf 100°, nicht dagegen die auf 60°, im Gegenteil verstärkt die letztere in vielen Fällen die Widerstandsfähigkeit gegenüber der Verdauung ebenso wie gegenüber der Selbstverdauung. Wir möchten annehmen, daß die koagulierenden Wirkungen mäßiger Hitze auf das Protoplasma daran schuld sind, Wirkungen, die durch starke Erhitzung wieder ausgeglichen werden. Dagegen spricht nichts für die von K a n t o r o w i c z (s. o.) vertretene Auffassung, daß Antifermente hier im Spiel seien, denn es ist doch sehr unwahrscheinlich, daß Erhitzung auf 60° diese weniger schädigen sollte als Chloroformbehandlung. Damit soll nicht gesagt sein, daß die Kleinwesen, wie die höheren Zellen, antifermentativer Wirkungen völlig beraubt seien. Wir haben ebenso wie K a n t o r o w i c z eine gewisse antitryptische bzw. trypsinbindende Wirkung an Bakterienextrakten und abgetöteten Bakterien beobachtet, aber gefunden, daß diese recht gering sind und erst bei hundertfach stärker verdünnten Trypsinlösungen zur Geltung kommen.

Auf die Ursachen der Widerstandsfähigkeit gramfester Keime gegen die Trypsinverdauung kommen wir später zurück, wenn wir von der chemischen Natur des Bakterienleibes sprechen (§ 18). Wie die Lebensfähigkeit oder Lebenstätigkeit sämtliche Keime gegen Trypsin zu schützen vermag, ist ein ungelöstes Rätsel (s. o. Pepsinverdauung).

§ 11. Bakteriolyse durch Serum. Wir können jetzt der Frage näher treten, ob die Veränderungen, die durch Verdauung und Selbstverdauung hervorgerufen werden, etwas mit den Erscheinungen der eigentlich so genannten B a k t e r i o l y s e im lebenden Tier bzw. in Serum und Freßzellen zu tun haben. Sehen wir uns zunächst die Schilderungen an, die darüber in der Literatur vorliegen.

Schon der erste Beobachter der keimschädigenden Eigenschaften der Körpersäfte, N u t t a l l ¹⁾, stellte an den in erster Linie von ihm studierten Milzbrandbazillen deutliche degenerative Veränderungen fest, ja, bemaß sogar danach die bakterizide Wirkung des Blutes oder Exsudates. Im frischen Zustand bestanden die Veränderungen in „kolbiger oder knotiger Auftreibung und stellenweisem Zerfall der Stäbchen,“ nach Färbung mit Metylenblau außerdem darin, daß die betreffenden Stäbchen sich nicht wie gesunde Bazillen mit Methylenblau schön blau, sondern in einem schmutzigen, mehr oder weniger violetten Tone färbten, der um so blasser wurde, je stärker die Degeneration entwickelt war. In ihrer Art unterschied sich die E n t a r t u n g der Bazillen innerhalb wie außer-

1) Zeitschr. f. Hyg. 4. 358 ff, mit Tafel IV.

halb der Leukozyten nicht. An einer anderen Stelle schildert Nuttall diesen Zerfall der freien Bazillen im hängenden Tropfen von Froschlymphe folgendermaßen: „Die Veränderungen bestanden hauptsächlich darin, daß das Protoplasma der Bazillen zunächst körnig wurde, und die Konturen eine sehr unregelmäßige Begrenzung annahmen. Nach und nach verschwand entweder die körnige Struktur wieder, die Konturen erschienen scharf, der Bazillus selbst aber wurde blasser und entschwand dem Blicke fast vollständig; oder die Körnung des Protoplasmas nahm noch mehr zu und der Bazillus zerfiel in mehrere Stückchen. Auch kolbige und knotige Auftreibung beobachtete man an den absterbenden Bazillen ziemlich oft. Ebenso ist Quellung oft um das Doppelte der normalen Dicke nichts Seltenes.“ Der ganze Prozeß nimmt (bei Zimmertemperatur) viele Stunden in Anspruch. Ebensolche Bilder von Milzbrandbazillen wurden später von zahlreichen Beobachtern innerhalb und außerhalb des tierischen Körpers gesehen, oft genug aber auch darauf aufmerksam gemacht, daß ähnlich degenerierte Formen auch in manchen Reinkulturen auf allen Arten von Nährböden oder unter Einwirkung anderer Schädlichkeiten, z. B. von Verdauungsenzymen, mehr oder weniger häufig vorkommen. Löwit¹⁾ glaubt allerdings mit Hilfe der Gramfärbung die Veränderungen, die unter dem Einfluß von Serum-Alexinen entstehen, von anderen unterscheiden zu können. Nach ihm erleiden virulente Milzbrandbazillen „bei etwa viertel- bis halbstündigem Aufenthalt in aktivem Kaninchenserum eine fein- und grobkörnige Umwandlung des normalerweise (bei der Gramfärbung) homogenen Bakterienleibes, mithin eine Zerbröckelung und Zerklüftung mit oder ohne gleichzeitige vakuolenähnliche Umwandlung desselben“. Unregelmäßige Form, Verquellung der Stäbchen, schwere Färbbarkeit usw. stellen keine beständigen Erscheinungen dar und werden auch sonst gelegentlich, besonders im Serum, aber häufiger nur bei schwach virulentem Milzbrand beobachtet (s. u.). Der Vergleich mittels der Prüfung auf Platten zeigt, daß im allgemeinen ein Parallelismus zwischen Plattentod und Granulabildung besteht, wenn auch die letztere manchmal etwas später zu erfolgen scheint. In solchen Fällen sieht man aber meist ein Vorbereitungsstadium vorhergehen, in dem die Bazillen wie „angefressen“ aussehen (Prägranulation). Ob die schmale Hülle, die man bei Gramfärbung und noch besser bei Färbung mit rotstichigem Methylenblau nahezu regelmäßig in den der Serumwirkung 15—30 Minuten ausgesetzten Bazillen be-

1) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien. Math.-naturwiss. Kl. 113, Abt. III, Oktober 1904, S. 367 ff. Mit Photogrammen.

merkt, und die sich später zu einer deutlichen Kapsel entwickelt, nicht auch ebenso früh in inaktivem Serum auftritt (§ 4) hat L ö w i t nicht untersucht. Die Beseitigung der Alexine durch Erhitzen des Serums (auf 63°), Ansäuerung oder 2% Magnesiumsulfat hebt auch die Granulabildung auf, und L ö w i t fing daher das aus den Gefäßen fließende Blut in letzterer Lösung auf, um die extravasale Granulabildung zu verhüten. Die an den Bazillen beobachteten Veränderungen waren trotzdem die gleichen. L ö w i t schließt daraus auf die Wirksamkeit der Alexine im lebenden Blut, die vielfach geleugnet worden ist. Ratten-serum verhält sich entsprechend seiner starken bakteriziden Wirkung wie Kaninchenserum, die wenig oder gar nicht wirksamen Sera vom Hunde, Meerschweinchen, Rinde und Huhn rufen ebensowenig Granulierung hervor. Wie gesagt, gilt das auch für alle möglichen anderen milzbrandschädigenden Stoffe, so das destillierte Wasser und Salzlösungen (s. u. § 14). Wenn überhaupt darin morphologische Veränderungen auftreten, was nur bei wenig virulentem Milzbrand in großer Ausdehnung zu geschehen pflegt, so sind sie anderer Art. In frischen Kulturen virulenter Bazillen fehlt die Granulierung ebenfalls, ältere wurden leider nicht untersucht. Es ist sehr wahrscheinlich, daß hier neben anderen Entartungserscheinungen auch die Granulabildung nicht fehlt. Nur die Pyocyanase schien nach E m m e r i c h und S a i d a und K l i m o f f (s. o. § 7) ähnlich zu wirken. Wenn man von dieser Ausnahme absieht, wäre nach L ö w i t also nur die schnelle Granulabildung, mindestens bei virulenten Milzbrandbazillen, als charakteristischer Ausdruck der Alexinwirkung, die sonst beschriebenen Entartungen aber als unwesentlich oder als Folgezustände anzusehen. Nachprüfungen der L ö w i t s c h e n Ergebnisse liegen nicht vor. Nimmt man sie als richtig an, so würde daraus folgen, daß die Serumwirkung gegenüber den Milzbrandbazillen von den durch die Selbstverdauung oder Verdauung hervorgerufenen verschieden sei. Wohl aber würden die späteren Veränderungen der Bazillen, denen man ja unzweifelhaft oft genug in Milzbrandtieren oder im Serum begegnet, vielleicht doch auf verdauende Einflüsse bezogen werden können.

Von den Veränderungen anderer Bazillen unter dem Einfluß der Alexine sind am besten untersucht die der Cholerabazillen. Bei ihnen beobachtete zuerst R. P f e i f f e r ¹⁾ einen förmlichen Auflösungsprozeß, die von ihm sogenannte Bakteriolyse. Besonders schnell verläuft sie in der Bauchhöhle immunisierter Meerschweinchen. Nach

1) Zeitschr. f. Hyg., 18, 1894.

10—20 Minuten können sich die vorher reichlich vorhandenen beweglichen Vibrionen in unbewegliche, kokkenähnliche, aber mehr oder weniger schlecht färbbare Körner (Granula) verwandeln und nach weiteren 10 Minuten völlig zerfallen. Im Reagenzglas kann man, wie zuerst *Metschnikoff* und *Bordet*¹⁾ beobachteten, in Serum oder Exsudaten denselben Vorgang verfolgen, er führt hier freilich nicht immer zu einer völligen, jedenfalls nicht zu einer schnellen Auflösung. Die Granula können vielmehr, wie wir bestätigen müssen, und neuerdings wieder von *Neufeld*²⁾ betont wird, tagelang sich im Serum erhalten. Von *Neufeld* weichen wir allerdings darin ab, daß wir einen anderen Teil der Granula nicht bloß im Tierkörper, wo ja andere Einflüsse in Frage kommen könnten (z. B. die Freßzellen), sondern auch im Reagenzglas gänzlich und schnell zugrunde gehen sahen. *Cantacuzène*³⁾ behauptet andererseits sogar, die bakteriolytischen Granula wären gar nicht abgestorben, sondern könnten wieder zu Kommabazillen auswachsen. Nach unseren eigenen Beobachtungen möchten wir diese Möglichkeit nicht ganz ausschließen. In einzelnen Fällen zeigt die Plattenzählung, daß trotz sichtbarer Granulabildung die Keime nicht erheblich spärlicher auswachsen als Kontrollen ohne Körnchen. Man sieht auch häufig im Anfang der Veränderung nicht nur die teilweise aufgequollenen Bazillen, sondern auch völlig runde Granula in deutlicher Bewegung. Im allgemeinen ist aber die Umbildung der Bazillen in Körnchen von ihrer Abtötung gefolgt. Die Granulabildung findet sich zwar am schönsten bei den Cholera-bazillen, und ähnlichen Vibrionen, aber auch bei Typhus-, Paratyphus, Ruhr-, Coli-, Pestbazillen und Spirochaeten, und zwar wird sie sowohl im Serum bzw. in der Exsudatflüssigkeit, als in den Phagozyten beobachtet. Hier und da ist zwar auch von Granulabildung in anderen Flüssigkeiten gesprochen worden, wir müssen aber gestehen, etwas ähnliches weder bei der Verdauung noch Selbstverdauung, noch bei irgendeinem anderen Auflösungs Vorgang der Bakterien gesehen zu haben. Die Granulabildung der gramnegativen Bazillen und Spirillen wäre demnach ebenso wie die im Aussehen übrigens sehr verschiedene Löwitsche Granulierung der grampositiven Milzbrandbazillen Erscheinungen besonderer Art⁴⁾. Neu-

1) Annal. Pasteur 1895.

2) Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 6, 1909.

3) Annal. Past. 1898.

4) Auch sonst scheinen gerade die grampositiven Bakterien (Strepto-, Pneumo-, Staphylokokken) weniger leicht der Bakteriolyse und auch der

f e l d möchte sie hervorgehen lassen aus einer Auflösung der Bakterienmembran, weil die sonst gegen taurocholsaures oder ölsaures Natron widerstandsfähigen Bakterien (§ 8) nach der Verwandlung in Granula von diesen Stoffen gelöst werden, wie membranlose tierische Zellen, Protozoen, Pneumokokken usw., und will anscheinend diese Ansicht noch durch den Nachweis stützen, daß die Granula der Cholerabazillen, d. h. also deren nacktes Protoplasma noch immunisierend („antigen“) wirkten, während die durch Kalilauge ihres Plasmas beraubten „Hülsen“ (§ 15) derselben Cholerabazillen dazu kaum imstande sind¹⁾. Für die N e u f e l d sche Deutung spricht sicher der Umstand, daß die Granula kugelig sind, also in der Tat dieselbe Form besitzen wie das auf mechanischem Wege aus der Membran herausgepreßte Bakterienprotoplasma (§ 5). Aber mit N e u f e l d s Annahme läßt sich wieder die oft erhebliche Widerstandsfähigkeit der Granula nicht vereinigen, ebensowenig die von mancher Seite (z. B. E i s e n b e r g § 20 und 328) mit einem gewissen Recht vertretene Vorstellung, daß gerade die äußere Bakterienhülle der Sitz der Bakterienrezeptoren bzw. Antigene sei. Ferner müßte man, wenn man die Deutung N e u f e l d s annähme, nach einer anderen Erklärung für die Bakteriolyse bei Milzbrand suchen. Sei dem, wie ihm wolle, ebenso wenig wie bei den Milzbrandbazillen sind bei den Cholera- und ähnlichen Bakterien mit der spezifischen Granulabildung die Veränderungen im Serum und namentlich im Tierkörper abgeschlossen. Die Granula verfallen zum Teil selbst der Auflösung, zum Teil gehen die Bakterien nicht durch das Stadium der Granulabildung hindurch, sondern lösen sich, wie fremde²⁾ und eigene Beobachtungen lehren, in anderer Weise, nämlich unter Verkleinerung oder auch Vergrößerung ihres Umfanges (Quellung) und Abnahme ihrer Färbbarkeit auf, d. h. unter Erscheinungen, die wir als Merkmale der nicht spezifischen Auflösung bzw. Verdauung kennen gelernt haben.

Bei den Bakterien der Coli- und Vibrionengruppe, ferner bei zahlreichen anderen Infektionserregern, die bisher nicht genannt sind, z. B. Pneumo-, Strepto- und Staphylokokken, den Anaërobiern, kommt diese nicht spezifische Auflösung vor oder ist die herrschende. Eigentümlicherweise wird die Granulabildung selbst bei Cholerabazillen vollständig durch diese zweite Art der Veränderung ersetzt, wenn sie vorher durch Erhitzung auf 90° oder Chloroform abgetötet worden sind

Bakterizidie des Serums zu verfallen. Man könnte daher wohl daran denken, daß der Widerstand gegen die Serumbakteriolyse ebenso wie die gegen Verdauung mit der Gramfestigkeit etwas zu tun hätte (§§ 9 und 10).

1) Vgl. § 333.

2) z. B. bei R a d z i e w s k y , Zeitschr. f. Hyg. 37, 1901.

(C a n t a c u z è n e ¹), R a d z i e w s k y ²), Verfasser). Man könnte einerseits daraus schließen, daß die Granulabildung eine Reaktion der lebenden Zelle wäre, andererseits, daß die Selbstverdauung nicht die Ursache der nicht spezifischen Veränderungen wäre, sondern Einflüsse des tierischen Körpers. K a n t o r o w i c z (s. o. § 10) ist in meinem Laboratorium dieser Erscheinung weiter nachgegangen. Nach ihm verlieren Colibazillen nach einem Aufenthalt von 2—3 Stunden in frischem Serum von Meerschweinchen und Menschen ihre Färbbarkeit in Methylenblau, wenn sie auf 75°, nicht wenn sie auf 60° erhitzt worden sind, Staphylokokken überhaupt nicht. Durch Hitze inaktiviertes Serum bringt diese Veränderung nicht hervor, tagelang stehendes, das keine bakteriziden Kräfte mehr besitzt, wohl. In Leukozyten verläuft der Vorgang ähnlich, auch in Leukozytenextrakten, jedoch sind letztere hitzebeständig. Auch kann durch Bakteriensubstanz („Antiferment“) die Wirksamkeit des Serums und der Leukozytenextrakts aufgehoben werden. Die Ähnlichkeit mit den früher besprochenen Verdauungserscheinungen liegt auf der Hand, wenn es auch — vielleicht wegen der zu großen Bakterieneinsaat — nicht zu einer vollständigen Auflösung der Bakterien, sondern nur zu einem Verschwinden ihrer Färbbarkeit (Karyolyse G a m a l e i a s § 6) kam. K a n t o r o w i c z nimmt deshalb an, in dem Serum und den Leukozyten sei ein trypsinartiges Ferment enthalten, dessen Beziehungen zu dem Komplement zweifelhaft seien. Das letzte Wort in der Frage ist noch nicht gesprochen, die Natur des Komplements sowie der wirksamen Leukozytenbestandteile (Leukine?) ist auch noch völlig unbekannt. Namentlich in den Extrakten der Leukozyten kommen natürlich wieder die Lipoide (s. o. § 8) in Frage.

§ 12. Antiförmín. Unter allen Lösungsmitteln für Mikroben ist das stärkste das sogenannte Antiformin, d. h. eine Mischung von etwa gleichen Teilen Natriumhypochlorit (10 prozentige J a v e l l e -sche Lauge) und Kalilauge (5—10%). Es löst nach U h l e n h u t h und X y l a n d e r ³) meist schon in Verdünnungen außer Cellulose und Wachs fast sämtliche organische Stoffe, einschließlich des Chitins, Keratins und Fettes und sämtliche Pilze, Protozoen und Bakterien mit Ausnahme der säurefesten, d. h. wachshaltigen (z. B. Tuberkel- und Leprabazillen⁴)). Am schnellsten — schon nach Sekunden in 2 bis 5 prozentigen Lösungen — verschwinden Choleravibrien, Spiro-

1) Annal. Pasteur 1898, 297.

2) Zeitschr. f. Hyg. 34. 447, 1900.

3) Arb. K. Gesundh. 32. 1909.

4) Im Widerspruch damit steht der Verlust der Säurefestigkeit bei den Tuberkel- und Thimotheebazillen nach kurzer Behandlung mit Javellescher Lösung (G r i m m e, Zentr. Bakt. 32. 171).

chaeten, Trypanosomen¹⁾, nach etwas weniger als 15 Minuten Kokken, gramnegative und Diphtheriebazillen, nach 30—45 Minuten die grampositiven Bazillen des Milzbrands und Rotlaufs. Am widerstandsfähigsten sind Sporen von Bakterien und Pilzen, indem sie selbst nach 24 Stunden noch nicht völlig gelöst zu sein brauchen. Nicht unwichtig ist die Tatsache, daß die Lösungsfähigkeit des Antiformins im ganzen parallel geht mit seinem Desinfektionsvermögen, was bei den übrigen Desinfektionsmitteln durchaus nicht der Fall ist. So blieben die Tuberkelbazillen in den Antiforminlösungen lange lebend, was dafür spricht, daß das Mittel nicht nur die wachsartigen Bestandteile ihres Leibes nicht zu lösen, sondern überhaupt nicht in das Protoplasma einzudringen vermag. Daraus zu schließen, daß das Wachs nur eine undurchdringliche Hülle bilde, dünkt mich aber zu weit gegangen, denn wie sollte dann überhaupt eine Ernährung der Bazillen erfolgen können? Die Hüllentheorie wird auch dadurch nicht bewiesen, daß die Tuberkelbazillen vielleicht Entwicklungsstadien durchlaufen können, (M u c h vgl. § 19 und 349), in denen sie nicht säurefest sind, also nach der gewöhnlichen Auffassung kein Wachs enthalten. Wahrscheinlicher ist uns, daß die ganze Substanz der säurefesten Bakterien mit Wachs durchtränkt ist. Die Wirkung des Antiformins erklärt sich daraus, daß es die Leistungen zweier schon an sich recht wirksamen Lösungsmittel vereinigt und durch diese Vereinigung erheblich verstärkt. Die J a v e l l e s c h e Lösung, die in der Botanik schon lange gebraucht wird, um protoplasmatische (stickstoffhaltige) Stoffe aufzulösen, löst für sich allein nur wenige Bakterien vollständig und sonst nur Teile des Plasmas (A. M e y e r, G r i m m e (§ 22)). Eine genaue vergleichende Prüfung fehlt noch.

§ 13. Alkalien. Die verdünnte Kalilauge war bereits lange anerkannt als ein Mittel, das zwar tierische Substanzen völlig löse, aber die Bakterien unberührt lasse und daher zu ihrer Erkennung benutzt werden könne. W e i g e r t hat schon 1876 angegeben, daß diese Regel für die Spirochaeten des Rückfallfiebers nicht gilt. Eine zweite Ausnahme habe ich²⁾ gefunden in den eigentümlichen Bazillen, die im Froschblutkörper schmarotzen. Z e t t n o w³⁾ erwähnt weiter, daß *Spirillum undula majus* zwar in stärkeren (25%) Kalilösungen nur feinkörnig wird, sich aber in 5 prozentigen schon binnen einer Minute völlig auflöst. Freilich widerstreben auch hier die jungen bzw. lebenskräftigen

1) Nach H ü b n e r (Zentr. Bakt. 47, 586) wird aber das filtrierbare Virus der Schweinepest langsamer (nach 2 Stunden) zerstört als die sog. Schweinepestbazillen (30—40 Min.).

2) Kruse, Virch. Arch. 120, 1890.

3) Zeitschr. f. Hyg. 24. 90, 1897.

Individuen, und zwar auch dann, wenn sie zerquetscht sind (§ 5), so daß man nicht daran denken kann, daß sie durch ihre Membran oder Hüllschicht geschützt werden. Eine teilweise Lösung vieler Bakterien durch dünne Kalilauge haben auch Nencki, Buchner, Lustig und Galeotti bei ihren Versuchen, die chemische Zusammensetzung der Bakterien zu bestimmen bzw. daraus Gifte oder Impfstoffe darzustellen, festgelegt (§ 25). Neufeld¹⁾ hat dann vor kurzem die Lösungserscheinungen einiger Bakterien auch unter dem Mikroskop studiert. Nach ihm würden Cholera- und andere Vibrionenaufschwemmungen fast völlig geklärt, es blieben nur schattenhafte Formen, „Hülsen“, zurück, die man nicht im gefärbten Trockenpräparat, sondern nur bei Zusatz von Farbstoff im frischen Zustand darstellen könnte. Weder Natriumtaurocholat und -oleinat, noch bakteriolytische Sera seien imstande, die aus der Lauge ausgeschleuderten Hülsen weiter zu verändern, auch seien sie nicht befähigt, im Tier Antikörperbildung auszulösen. Typhusbazillen werden nach Neufeld weniger stark, Staphylokokken noch weniger, Rotlaufbazillen gar nicht aufgelöst. Mit der Neufeldschen Ansicht stimmt nicht überein die Auffassung Gamaleias (§ 6), nach der die Alkalien wie die starken Salzlösungen gerade umgekehrt nur die Bakterienmembran unter Schleimbildung lösen sollen, also Stromatolyse verursachen, während Ammoniak, Aminbasen und namentlich Koffein chromatolytisch wirken.

Ich habe mit Schreiber entsprechende Versuche an einer großen Reihe von Bakterien begonnen und gefunden, daß auch hier wie bei der Trypsinverdauung vor allem ein Gegensatz besteht zwischen grampositiven und gramnegativen Bakterien. Die ersteren werden durch 1prozentige Kalilauge kaum angegriffen, die letzteren mehr oder weniger stark. Es handelt sich dabei anscheinend um keine isolierte Auflösung der Membran oder des Plasmas, sondern um eine freilich bei den einzelnen Individuen und Arten ungleichmäßig fortschreitende Zerstörung der ganzen Zellen. In 10prozentiger Kalilösung werden dagegen sämtliche Bakterien, außer den säurefesten, bis auf Spuren aufgelöst.

§ 14. Salze und andere Lösungsmittel. Die augenblickliche Wirkung der Salze und anderer Kristalloide auf Bakterien haben wir schon bei Gelegenheit der Plasmolyse (§ 2) erörtert und dort erwähnt, daß sie auch als Lösungsmittel wirken können. Hin und wieder hat man davon Gebrauch gemacht, um Stoffe aus den Bakterien zur chemischen Ana-

1) Zeitschr. f. experim. Path. 6, 1909.

lyse (Kap. II) oder zur Darstellung von Antigenen (Kap. XVII) auszu ziehen. Systematisch studiert sind die mikroskopischen Veränderungen, die dabei entstehen, außer von *G a m a l e i a* (§ 6), auch von *C o n d e l l i*¹⁾. Seine Versuchsanordnung war die, daß er frische Agarkulturen in den Lösungen der betreffenden Stoffe — meist Normallösungen von Ammonium-, seltener Kaliumsalzen — aufschwemmte, mit Chloroformzusatz 2—5 Tage bei 37° hielt und dann mit Methylenblau färbte. Es ergab sich, daß man Bakteriolyse und Stromatolyse (im Sinne *G a m a l e i a*s) an Milzbrand-, Diphtherie-, Cholera-, Typhus-, Dysenterie- und Colibazillen mit vielen anorganischen und organischen Salzen erzielen kann. Gewisse Gesetzmäßigkeiten zeigen sich insofern, als die Haloidsalze um so kräftiger wirken, je geringer das Atomgewicht der Halogene, die Oxysalze der Halogene, der Schwefel- und Phosphorgruppe umgekehrt, je größer das Atomgewicht der Metalloide ist. Sonst bestehen viele Unregelmäßigkeiten, namentlich bezüglich des Verhaltens der einzelnen Bakterien. Auch ließ sich keine Beziehung zwischen Bakterio- und Chromatolyse feststellen. Bakteriolytisch wirkten am kräftigsten Fluor- und Chlorammonium, Ammoniumselenit und -tellurit, chromatolytisch Jodammonium, die Seleniate, Tellurate und Phosphate. Was uns aber in erster Linie interessiert, die Bakteriolyse der Milzbrandbazillen durch Chlor- und Fluorammonium war unabhängig davon, ob die Bakterien lebendig oder stundenlang auf 65—100° erhitzt verwendet wurden. Die Selbstverdauungstheorie *M a l f i t a n o*s und *D a n y s z*s (§ 9) wäre also hierauf nicht anzuwenden; geradezu in Widerspruch zu den Angaben der letzteren Verfasser stehen aber die Ergebnisse *C o n d e l l i*s in reinem Wasser, indem auch hier sich kein Unterschied zwischen lebenden und gekochten Bazillen zeigte. Die Auflösung dieses Widerspruches liegt vielleicht darin, daß mit verschiedenen Stämmen der Milzbrandbazillen gearbeitet wurde (s. o § 11 *L ö w i t s* Versuche über Bakteriolyse in Serum).

Ich selbst habe nur einige Versuche *C o n d e l l i*s zugleich mit solchen *G a m a l e i a*s über die Koffein-, und *B a s s e n g e*s über die Lezithinwirkung (§ 8) an Ruhrbazillen wiederholt, indem ich eine dünne Aufschwemmung von diesen gekocht und ungekocht in destilliertes Wasser, 0,9 prozentige und 0,6 prozentige Kochsalzlösung, 6 prozentige Salmiak-, 2 prozentige Koffein-, $\frac{1}{2}$ oder 0,1 prozentige Lezithinlösung brachte und 6 Tage lang bei 37° hielt. Wesentliche Unterschiede konnte ich dabei nicht feststellen; in allen Röhrchen zeigten sich neben gut auch schlechter gefärbte Individuen; danach wäre also

1) *Annali d'ig. speriment., Roma* 1904.

überall nach der *Gamaleias*chen Bezeichnung eine gewisse Chromatolyse eingetreten.

Verdünnte Säuren haben nach älteren und neueren Erfahrungen (vgl. § 10 Pepsinverdauung) kaum eine lösende Kraft auf Bakterien.

Daß destilliertes Wasser als solches auf Bakterien wirkt, ist längst bekannt¹⁾, ebenso daß die Wirkung einerseits sehr verstärkt wird durch die Gegenwart kleinster Mengen — den „oligodynamischen“ Einfluß — von giftigen Stoffen (Alkalien, Metallen) im Wasser und andererseits geschwächt wird durch spurweise Beigabe von Salzen und Nährstoffen²⁾. Sehr wahrscheinlich wirkt das destillierte Wasser dabei als Lösungsmittel für Bestandteile des Bakterienkörpers; in der Tat bekommt man ja auch in wässerigen Aufschwemmungen, namentlich wenn sie längere Zeit bei hoher Temperatur gehalten werden, selbst ohne Schütteln einen Auszug von Bakterienstoffen, deren giftige, aggressive und antigene Natur leicht festzustellen ist (Kap. XVI u. XVII). Freilich ist schwer zu entscheiden, wie weit die Selbstverdauung, die durch den Nahrungsmangel im Wasser in Gang gebracht wird (s. o. § 9), die Lösung beschleunigt bzw. erst ermöglicht. Morphologische Veränderungen der Bakterien (*Gamaleias* Chromatolyse) sind dabei vielfach beobachtet worden.

§ 15. **Schlußfolgerungen aus der Wirkung der Lösungsmittel.** Aus den Untersuchungen über die mikrochemische Einwirkung von Lösungsmitteln auf Bakterien allgemeine Schlüsse über die Beschaffenheit ihres Körpers zu ziehen, geht kaum an, da ihre einzelnen Arten und manchmal sogar ihre Stämme und Individuen zu viele Unterschiede untereinander zeigen. Es lassen sich verschiedene Stufen der Widerstandsfähigkeit unterscheiden, die eine unleugbare Beziehung zur Färbbarkeit zu haben scheinen. Obenan stehen die säurefesten Bazillen und Sporen, dann folgen die gramfesten und schließlich die gramnegativen Formen. Indessen fallen einige Arten aus dieser Gruppierung heraus, so stehen die gramfesten Pneumokokken, die gramnegativen Meningokokken und Spirochäten durch ihre Widerstandslosigkeit gegen Lipide den Protozoen, die Pneumokokken durch ihre Löslichkeit in Verdauungsflüssigkeiten den gramnegativen Bakterien näher. Die Widerstandsfähigkeit der letzteren selbst wieder zeigt zahlreiche Abstufungen. Die von *Gamaleia* versuchte Einteilung

1) Protozoen, z. B. Trypanosomen und Wutvirus schädigt es aber im allgemeinen schneller, so daß *Novy* und *Knap*p (Journ. of infect. diseases 1906, 303) aus der Widerstandsfähigkeit der Spirochaeten bei der Dialyse in Kollodiumsäckchen gegen Wasser auf ihre bakterielle Natur schließen (vgl. § 359).

2) Vgl. namentlich *Ficker*, Zeitschr. f. Hyg. 29. 45, 1898.

der Lösungsmittel in stromato-, chromato- und bakteriolytische läßt sich unseres Erachtens schon wegen des sehr ungleichen Verhaltens der Bakterienarten nicht durchführen.

§ 16. Koagulierende und andere desinfizierende Einflüsse. Sehen wir zu, ob es gelingt, mit Hilfe anderer Reagentien über den Bau der Mikroben bzw. der uns wegen ihrer Abweichungen von anderen Kleinwesen in erster Linie interessierenden Bakterien ins Klare zu kommen. Morphologische Veränderungen werden nach Einwirkung der von Gamaleia (§ 6) sogenannten koagulierenden, d. h. der meisten desinfizierenden Mittel kaum beobachtet. Ob sie wirklich alle in den Verdünnungen, in denen sie töten, koagulierend wirken, ist übrigens zweifelhaft. Oft genug, so z. B. bei den schweren Metallsalzen, wird jedenfalls die physikalische — niederschlagende Wirkung — begleitet von einer chemischen Bindung, die vielleicht das Wesentliche an dem zerstörenden Vorgang darstellt. Noch weniger wissen wir über die Wirkungsweise anderer für Mikroben giftiger Stoffe, wie z. B. des Chloroforms, des Toluols usw., die, wie wir schon sahen, zum Teil dadurch für die Biochemie wichtig geworden sind, daß sie die Lebensfähigkeit der Mikroben nicht vollständig und plötzlich aufheben, sondern gewisse Fermentvorgänge (z. B. die Selbstverdauung § 9) mehr oder weniger unberührt lassen und dadurch mittelbar auch morphologische Veränderungen tiefgehendster Art veranlassen. Schließlich gehören hierher auch die Farbstoffe, deren zum Teil spezifische antiseptische Leistungen gegenüber einzelnen Bakterienarten und Protozoen schon früher und neuerdings wieder differentialdiagnostische und therapeutische Verwendung gefunden haben. Auf sie werden wir im folgenden wegen ihrer Bedeutung für die mikroskopische Zellenlehre näher eingehen, während wir die Erörterung der Giftwirkungen, weil sie nicht in dies Gebiet schlägt, an anderer Stelle fortsetzen werden (§ 55).

§ 17. Farbstoffe. Kernfärbungen bei Bakterien. Wegen ihrer für das Auge auffallenden Wirkungen besonders viel studiert sind die Farbstoffe. Allerdings wollen wir gleich vorwegnehmen, daß die Hoffnungen, die man wegen der glänzenden Ergebnisse, die sie in der höheren Gewebs- und Zellenlehre geliefert haben, auf sie gesetzt hat, bei den Bakterien sich nicht oder wenigstens nicht in der gleichen Richtung erfüllt haben. Denn es ist bisher nicht mit Sicherheit oder auch nur Wahrscheinlichkeit gelungen, bei ihnen den typischen Bau der höheren Zellen, vor allem das Vorhandensein echter Kerne nachzuweisen. Die sehr große Literatur über diese Frage hier ausführlich zu besprechen, ist nicht unsere Aufgabe, zumal da das bis in die letzte Zeit hinein oft genug geschehen ist. Schon der Umstand, daß sich

die abweichendsten Ansichten über die Natur der Bakterienkerne noch schroff gegenüberstehen, spricht dafür, daß eine Lösung des Problems nicht gefunden worden ist, oder vielleicht, besser gesagt, auf dem begangenen Wege überhaupt nicht gefunden werden kann. Als Kerne hat man angesehen erstens die Hauptmasse der Bakterien selbst, indem man entweder mit Bütschli¹⁾, Löwit, Boni, Zettnow den nach den gewöhnlichen Methoden allein färbbaren Teil als einen dem Zentralkörper der Cyanophyceen vergleichbaren Kern und die meist schwerer, z. B. durch Geißelfärbung darstellbaren Hülle als Plasma betrachtete, oder unter Ablehnung der letzten Deutung die ganzen Bakterien mit Hüppe, Klebs, Wahrlich u. a. als Zellkerne oder mit Ruzicka und Ambroz wenigstens als Analoga des Zellkerns ansprach.²⁾ Eine zweite Reihe von Forschern hält an der Zellennatur der Bakterienmasse fest und glaubt darin diese oder jene meist erheblich an Masse zurücktretenden, körnigen oder stäbchenförmigen, in der Ein- und Mehrzahl vorhandenen Bestandteile als Kerne deuten zu dürfen (Schottelius, Sjöbring, A. Meyer³⁾ und Grimme, Feinberg, Nakanishi, Vejdowsky, Rayman und Kruis, Mencl, Preisz, Amato u. a.). Auf Grund der Tatsachen, daß die färbbare Substanz der Bakterien oft in verteiltem Zustand auftritt und sich gelegentlich im Lauf der Sporenbildung zu einem massigen Körper verdichtet, hat man ferner mehr oder weniger ausdrücklich von einem im Plasma verteilten „Chromidialnetze“ gesprochen (R. Hertwig, Schaudinn⁴⁾ u. a.⁵⁾ oder läßt, wie Wellengrebel⁶⁾, in den Bakterien nicht einen eigentlichen Kern im Zellplasma gelten, sondern nur „Chromatin“, das bald „diffus verteilt“, bald in „Querbinden, Zickzacklinien oder Netzen angeordnet“, bald „zentralisiert“ auftrete, in einem „Amphiplasma“. Wenn man sich durch ungleiche Ausdrücke nicht beirren läßt, findet man keinen großen Unterschied zwischen den von Schaudinn, Wellengrebel und selbst Ruzicka und Ambroz vertretenen Anschauungen und der von Weigert, Mitrophanow, zuletzt von Gotschlich⁷⁾ geäußerten, wohl von den meisten Bakteriologen und Botanikern (Fischer, Migula) geteilten Ansicht, in den Bakterien

1) Bau der Bakterien, 1890.

2) Vgl. Lit. namentlich bei Ambroz, Zentr. Bakt. 51. 213, 1909.

3) Flora 84, Erg. H. 1897; 86, 1899.

4) Arch. Protist. 1, 1902; vgl. ebenda 2, 1903.

5) Vgl. bei Ruzicka, Zentr. Bakt. 23. 289, 1909.

6) Arch. f. Hyg. 70. 400, 1909.

7) Kolle-Wassermann Handb., 2. Erg. Bd., S. 5, 1907.

seien die beiden Hauptbestandteile der höheren Zelle, Kern und Zellplasma, noch nicht scharf geschieden, sondern mehr oder weniger innig gemischt, daneben aber noch eine bald stärker, bald schwächer ausgebildete Hülle (Membran, Ektoplasma) vorhanden. Wir hätten Neigung, uns dieser Meinung anzuschließen, betonen aber ausdrücklich, daß die Vorstellung, die Bakterien seien Analoga der Kerne, in der allgemein anerkannten Verwandtschaft für Kernfarben und der schon von Wahrlich, Ruzicka, Wellengrebel für einzelne Fälle und von Fermi und uns allgemein nachgewiesenen Widerstandsfähigkeit gegen Pepsinverdauung (§ 10) auf den ersten Blick eine Stütze findet. Wir würden danach der obigen Definition hinzuzufügen haben, daß die kernähnlichen Bestandteile in den Bakterienzellen stark überwiegen. Indessen dürfen wir die Kernähnlichkeit der Bakterienmasse nicht überschätzen. Zunächst steht folgendes fest: Ebensowenig wie dem gewöhnlichen Zellplasma entspricht der Bakterienleib in der Hauptsache durchaus dem gewöhnlichen Zellkern. Mindestens ein großer Teil von Bakterien, die sogenannten gramfesten, unterscheiden sich von den Kernen durch ihr Verhalten zu Farben und Lösungsmitteln sehr erheblich; sie sind nicht nur besonders intensiv färbbar und gramfest, sondern widerstehen auch vollständig der Einwirkung von Pepsinsalzsäure, Trypsin und verdünnter Kalilauge. Die gleichen Eigenschaften finden sich bei anderen Zellarten nur ausnahmsweise wieder, unseres Wissens nämlich, wenn man von den verhornten Zellen absieht, nur bei den Pilzen. Ferner zweigt sich von den grampositiven Bakterien eine weitere Gruppe ab, die der säurefesten Bazillen, die, außer durch ihre Färbbarkeit, durch ihren Widerstand auch gegen starke Kalilauge und Antiformin gekennzeichnet sind. Etwas, was ihnen an die Seite zu setzen wäre, scheint sich sonst im ganzen Reiche der Lebewesen nicht zu finden. Offenbar müssen wir uns über das Wesen der Gramfestigkeit und der Säurefestigkeit einigen, bevor wir etwas Bestimmtes über die Natur der Bakterienzelle aussagen dürfen.

§ 18. Gramfestigkeit. Die wenigen Forscher, die sich bisher mit den Ursachen der Gramfestigkeit abgegeben haben, namentlich U n n a , A. F i s c h e r¹⁾, G r i m m e²⁾, B r u d n y³⁾, E i s e n b e r g⁴⁾, sind verschiedener Ansicht. U n n a glaubt, das Fortbestehen der Färbung bei den gramfesten Bakterien erkläre sich am besten aus einer festen

1) Färbung, Fixierung und Bau des Protoplasmas, 1899.

2) Zentr. Bakt. 1. Abt. 32. 163, 1902.

3) Ebenda 2. Abt. 21. 65, 1908.

4) Ebenda 1. Abt. 49, 473 ff, 1909. Vgl. auch ebenda 53, 1909.

chemischen Verbindung „Gewebe + Pararosanilinsalz + Jod im Inneren der Bakterien“, während die gramnegativen Gewebe die Jod-Pararosanilinverbindung nur locker bänden und darum bei der Alkoholbehandlung nicht festhielten. Dieser Auffassung schloß sich Grimme an und lehnte die von Fischer versuchte physikalische Erklärung ab, weil weder die Entfernung der Hülle durch kurzes Aufkochen in 5 prozentiger Salzsäure noch eine Lockerung des Plasmas durch Behandlung mit Pepsinsalzsäure, Trypsin, 5 prozentige Kalilauge und Natriumkarbonat die Gramfestigkeit beeinträchtigen. Fischer folgert dagegen aus der Beobachtung, daß eine durch Formaldehyd, Platinchlorid oder Kaliumbichromat gefällte Albumose um so gram- und säurefester ist, je größer die Granula sind, daß die beiden Eigenschaften auf einem größeren Substanzreichtum und der damit verbundenen größeren Absorptionsfähigkeit der gram- und säurefesten Bakterien beruhe. Ein zweiter Schüler A. Meyers, Brudny, nimmt diesen an sich wohl berechtigten Gedankengang wieder auf, setzt ihn allerdings in einer wenig überzeugenden Weise fort, indem er zunächst voraussetzt, daß die Intensität der Farbstoffabsorption mit der Größe der intermizellaren Räume zunehmen müsse. Da mit dieser Größe auch die Durchlässigkeit des Plasmas für große Moleküle steige, könnte das Jod tief in das Innere der gramfesten Bakterien, in das der gramnegativen nur oberflächlich eindringen. Deshalb würden die ersten mit der Pararosanilinjodverbindung stärker gesättigt sein und der Entfärbung durch Alkohol Widerstand entgegensetzen, oder, wie nach den Untersuchungen Neides¹⁾ besser gesagt wird, langsamer durch Alkohol entfärbt werden. Andererseits könnte aber nach Fischer die Undurchlässigkeit für gelöste, chemisch indifferente Stoffe auch an der Plasmolysierbarkeit (§ 2) erkannt werden, die plasmolysierbaren Bakterien müßten also gramnegativ, die nicht plasmolysierbaren grampositiv sein. Das ist nun, wie Brudny nachweist, und wie leicht zu bestätigen ist, allerdings der Fall. Sind aber darum die Schlußfolgerungen dieses Forschers über das Wesen der Gramfestigkeit auch richtig? Meines Erachtens ist kaum ein einziger seiner Sätze haltbar oder gar bewiesen. Die größere Dichte der Bakteriensubstanz und deren größere Absorptionsfähigkeit kann nicht auf der Größe ihrer intermizellaren Räume, sondern muß gerade umgekehrt auf ihrer Kleinheit beruhen, denn je kleiner die Poren einer absorbierenden Substanz, z. B. des Sandes sind, desto größer ist bekanntlich die Gesamtoberfläche ihrer Teilchen, desto größer auch ihr Absorptionsvermögen. Auch die größere Dichte

1) Zentr. Bakt. 35, 1904.

können wir uns doch nur so zustandegekommen denken, daß die zwischen größeren Teilchen vorhandenen Poren möglichst durch kleine ausgefüllt sind. Dadurch werden aber die Poren wieder verkleinert und die Oberfläche vergrößert. Weiter ist durch nichts bewiesen, daß das Jod sich ebenso verhält wie die „indifferenten“ Stoffe, die Plasmolyse bewirken; höchstens von dem Jodkalium, das in der Lugolschen Lösung neben dem Jod vorhanden ist, könnte man das sagen. Nun weiß man zwar seit Gram, daß alkoholische Jodlösung die Reaktion nicht hervorbringt, ebensowenig Jodkalium, sondern nur die Lugolsche Lösung. Um die Durchlässigkeitstheorie aufrecht erhalten zu können, müßte man also annehmen, daß mit der Lugolschen Lösung das Jod leichter einzudringen vermöge als mit der alkoholischen, also eher in Form kleiner Moleküle darin enthalten sei. Davon wissen wir nichts. Endlich ist die F i s c h e r s c h e Deutung der Plasmolyse auch nicht bewiesen. Die mangelhafte Plasmolysierbarkeit der gramfesten Bakterien brauchte nicht auf leichter er Durchgängigkeit für gewisse Stoffe, sondern könnte gerade auf der von F i s c h e r selbst für die Erklärung der Gram- und Säurefestigkeit herangezogenen größeren Dichtigkeit des Zellkörpers, d. h. seiner schwereren Durchgängigkeit für alle Stoffe, einschließlich Wasser beruhen, soweit sie nicht auf einen festeren Zusammenhang zwischen Membran und Zellkörper, der beide unter dem Einfluß wasserentziehender Mittel gemeinsam schrumpfen läßt, zu beziehen ist. E i s e n b e r g erklärt sich ebenfalls für die Durchlässigkeitstheorie, will aber die Unterschiede mehr in die Membran und die plasmatische Rindenschicht, die zusammen als „Ektoplasma“ bezeichnet werden, als in den eigentlichen Zellkörper, das Endoplasma, verlegen und beruft sich dafür auf Bilder, die er bei gewissen Veränderungen des Gramschen (oder C l a u d i u s s c h e n) Verfahrens erhielt, und in denen das Ektoplasma die Farbe stärker bzw. länger festhielt als das Endoplasma.

Die meisten übrigen Forscher benennen umgekehrt die nach innen gelegene, viel dünnere, namentlich bei vitaler Färbung leichter als solche darstellbare „Rindenschicht“ E i s e n b e r g s Membran und die äußere, viel dickere, schwer färbbare „Membran“ Schleimhülle. Die sogenannte „Kapsel“ ist nach der gewöhnlichen Ansicht nur die unter bestimmten Bedingungen besonders stark entwickelte (s. o. § 4) Schleimhülle, die freilich manchmal Schichtung erkennen läßt. E i s e n b e r g wird wesentlich durch den Umstand zu seiner Ausdrucksweise verführt, daß nach Einwirkung schrumpfender Mittel seine Rindenschicht sich (bei grampositiven Bakterien) mit dem eigentlichen Bakterienkörper zusammen von der Schleimschicht zurück-

zieht. Wir haben daraus früher (§ 2) den Schluß gezogen, daß die „Membran“ der Autoren bei gramfesten Bakterien entweder elastisch sei oder überhaupt nur eine festere Rinde darstelle, die sich nicht von dem Zelleib trennen lasse, können also in dieser Beziehung gegen Eisenbergs Bezeichnung nichts einwenden. Statt seiner „Membran“ möchten wir aber lieber den alten Namen Schleimhülle beibehalten (§ 20). Wir geben zu, daß die gewöhnlich schwer oder gar nicht färbbaren Außenschichten der Bakterien bei der Gramschen Methode sich mitfärben, weshalb die danach behandelten Bakterien ganz allgemein größer erscheinen als die anders gefärbten. Ebenso ist das ja bei allen Bakterien nach der Geißelfärbung der Fall. Das beweist aber nur, daß man bei sehr starker Färbung, Anwendung von Beizen u. dgl. die äußere Bakterienhülle mitfärben kann. Aber nur ausnahmsweise erhält man doch die von Eisenberg in den Vordergrund gerückten Bilder, gewöhnlich eine mindestens ebenso starke und haltbare Färbung im Inneren des Zellkörpers. Dafür, daß die physikalische oder chemische Beschaffenheit der Außenschichten an dem Zustandekommen der Gramschen Reaktion wesentlich beteiligt sei, hat man deshalb nicht den geringsten Anhaltspunkt.¹⁾ Und erst recht sehen wir nicht ein, wie gerade die Durchlässigkeit der äußeren Schichten an dem Erfolge der Gramfärbung schuld sein soll. Mit einem Schlage wird dagegen das Wesen der letzteren aufgeklärt durch den oben von uns gelieferten Nachweis²⁾, daß die gramfesten Bakterien gegen 1prozentige Kalilauge sowohl wie gegen Trypsinverdauung im allgemeinen viel widerstandsfähiger sind als die übrigen. Das kann natürlich nicht erklärt werden durch ihre zu große, sondern höchstens durch ihre zu geringe Durchlässigkeit, die man am ein-

1) Umgekehrt ist zuzugeben, daß bei schwachen Färbungen die Beschaffenheit der Außenschicht von Bedeutung ist. Starke Schleimhüllen verhindern in diesem Falle leicht den Eintritt der Farbe ins Innere. Ebenso sind wohl zu beurteilen die sog. vitalen, d. h. im frischen Zustand vorgenommenen Färbungen, die nicht nur eine erheblich schwächere Annahme der Farbe im ganzen ergeben, sondern auch oft eine ungleichmäßige, in der Peripherie stärkere Färbung (A. Meyer, Grimme a. a. O.). Über vitale Färbungen vgl. ferner Büchner, Zentr. Bakt. 7. 733. Plato, Arch. mikr. Anatom. 56 und Zeitschr. f. Hyg. 38 (Neutralrot); Péju und Rajat, Soc. biol. 25. V. 1907 (Unterscheidung der einzelnen Farben in Nährböden). S. u. (§ 22) auch die Färbung von Fett und Volutin.

2) Vgl. Kruse, Beziehungen zwischen Plasmolyse, Verdaulichkeit, Löslichkeit und Färbbarkeit von Bakterien. Vorläuf. Mitt. Münch. med. Wochenschr., 1910, Nr. 13.

fachsten mit A. Fischer auf eine größere physikalische Dichtigkeit des Zellkörpers der gramfesten Bakterien zurückführen dürfte. Aber auch die Auffassung Unnas hätte hier vorläufig Gleichberechtigung in dem Sinne, daß die größere Widerstandsfähigkeit gegenüber der Grambehandlung sowie den Lösungsmitteln auf chemischen Unterschieden beruhte. Die Entscheidung darüber, welche dieser beiden Erklärungen die richtige ist, ließe sich vielleicht treffen durch Untersuchungen über das Verhalten der gründlich zerriebenen Bakterienkörper gegenüber den genannten Reagentien. Übrigens schließen sich die physikalische und chemische Auffassung nicht gegenseitig aus, sondern der besondere chemische Charakter der gramfesten Bakterienmasse könnte ganz gut mit einer größeren Dichtigkeit, einem festeren Zusammenhalten, vereinigt sein, das ja bei manchen Bakterien nach den Zerquetschungsversuchen zu bestehen scheint (s. o. § 5). Stellen wir uns, wozu wir wegen der außerordentlich großen Widerstandsfähigkeit der gramfesten Bakterien gegenüber Trypsin und Kalilauge große Neigung verspüren, auf den chemischen Standpunkt, so werden wir fragen können, ob nicht diese Widerstandsfähigkeit auf einer besonderen Beschaffenheit des Bakteriennukleins und damit der Kernstoffe beruhen könnte. Dagegen spricht aber anscheinend die Tatsache, daß auch die Pilze, und insbesondere die Sproßpilze, deren Kernhaltigkeit nach fremden und eigenen Beobachtungen feststeht, in ihrem ganzen Plasma, also auch außerhalb der Kerne, die Gramfärbung annehmen. Ein gewisser Zusammenhang zwischen Gramfestigkeit und Kernsubstanz ist auf der anderen Seite insofern nicht zu leugnen, als ganz allgemein die Gewebkerne nach Gram langsamer entfärbt werden als das Plasma. Es braucht kaum gesagt zu werden, daß die oft gemachte Erfahrung (vgl. Eisenberg a. a. O.), wonach Bakterien im Zustande des Alters, der Entartung, des Zerfalls ihre Gramfestigkeit verlieren können, und die ebenso bekannte Tatsache, daß die Gramfestigkeit eine Eigenschaft ist, die verschiedene Grade aufweist, sowohl der physikalischen als der chemischen Erklärung zugänglich ist.

§ 19. Säurefestigkeit. Auch die sogenannte Säurefestigkeit wird, wie wir sahen, durch Fischer auf eine größere Substanzdichte zurückgeführt, und für diese Deutung spricht auf den ersten Blick der doppelte Umstand, daß außer den Tuberkelbazillen und Verwandten alle echten Bakteriensporen, deren Aussehen und Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse man gern durch große Dichtigkeit erklärt, säurefest, und daß die säurefesten Bakterien

gleichzeitig gramfest sind, ja, nach älteren und neueren¹⁾ Beobachtungen Entwicklungsstadien zu durchlaufen scheinen, in denen sie nicht säure-, wohl aber gramfest sind. Indessen sind auch andere Deutungen aufgestellt worden. So sollte nach Ehrlich die Hülle der Bazillen für Säure undurchlässig sein, nach Helbing und Ruppel die Säurefestigkeit an dem Gehalt der Bakterien an Chitin oder chitinähnlichen Stoffen (§ 27), nach zahlreichen Forschern an ihrem Fett- und Wachsgehalt (§ 26) liegen, oder auch allen möglichen Bestandteilen ihres Körpers anhaften (Auclair und Paris). Nach Grimme²⁾ soll es ein Stoff sein, der in heißem Xylol, 80 prozentigem Alkohol, Javellescher Lösung³⁾, 0,5 prozentiger Salzsäure, weit weniger gut in Äther, nicht in Verdauungsflüssigkeiten löslich ist bzw. durch sie zerstört wird, also sich nur in einzelnen Beziehungen wie ein Fett verhält. Das Vorratsfett der Bazillen wäre nach Grimme überhaupt nicht säurefest, sondern geradezu die Ursache der ungefärbten Lücken in den Bazillen (s. u. § 22). Eine eigentümliche Beziehung der Säurefestigkeit zur Fettaufspeicherung der Bakterien sah aber Grimme insofern, als er nicht nur die Sporenanlagen, sondern auch die jüngeren Keimstäbchen des *Bac. tumescens*, *mycoides* und anderer Bakterien, die Fett, nicht Glykogen aufzuspeichern pflegen, säurefest fand. Das erinnert an die freilich ebenso oft bestrittene Angabe älterer und neuerer Forscher, nach der Bakterien durch Fetternährung Säurefestigkeit gewinnen sollen (§ 349). Die Sachlage ist offenbar noch nicht geklärt, wahrscheinlich gibt es aber verschiedene Ursachen der Säurefestigkeit.

Für das Zellproblem ist die Säurefestigkeit mancher Bakterien wohl nur dadurch wichtig, daß sie für die Zelle eine Zusammensetzung bezeugt, die sonst im Bereich der Lebewesen höchstens einzelnen Zellteilen zukommt. Eine besondere Beschaffenheit der Kernstoffe in den Bakterien, wie sie sich vielleicht in der Gramfestigkeit darstellt, beweist sie aber wohl nicht.

§ 20. Schlüsse aus den Farbreaktionen auf die Natur der Bakterienzelle. Das Ergebnis der §§ 17—19 ist, daß die Zusammensetzung der Bakterienleiber trotz mancher Ähnlichkeit mit der Kernmasse in vielen Beziehungen so eigentümlich ist, daß wir schon des-

1) Vgl. Much, Beitr. Klin. Tuberkulose, 8, 1907, Berl. klin. W. 1908, 14. Wirths, Münch. med. Wochenschr., 1908, 32. Vielleicht besteht eine Beziehung der gramfesten Körnchen zu den Spenglerschen Bazillensplittern (Zeitschr. f. Hyg. 49). Die ganze Frage ist aber noch nicht spruchreif. Vgl. Berger, Zentr. Bakt. 53. 174, 1910, mit Lit.

2) Zentr. Bakt. 32. 165, 1902, mit Lit.

3) S. auch oben § 12.

wegen die Analogie der Bakterien mit Kernen nicht als zutreffend anerkennen können. Dazu kommt noch die äußere Ausstattung dieser Leiber mit Geißeln und Hüllen und die innere mit Fermenten, Giften usw., d. h. mit Organellen und Stoffen, die wir sonst als Erzeugnisse des Protoplasmas anzusehen gewohnt sind. Eine durchschlagende Bedeutung haben freilich diese Erwägungen auch nicht, denn bei manchen Protozoen hängen die Geißeln doch mit dem Kern und nicht mit dem Plasma zusammen, und den Ursprung der Fermente usw. kennen wir überhaupt nicht, sondern höchstens ihre schließliche Lagerung im Plasma. Wenn wir die Dinge im ganzen betrachten, ziehen wir deshalb vor, statt den Bakterienkörper als ein reichlich mit Kernstoffen durchsetztes, zum Teil mit einer deutlichen Membran, mindestens aber mit einer Schleimhülle umkleidetes Plasma zu bezeichnen, ihn als Bildung besonderer, sonst nicht vorkommender Art anzuerkennen, die man dann besser nicht Zelle, sondern etwa mit dem H ä c k e l s c h e n Wort Zytode nennt. Membran und Schleimhülle könnte man allenfalls als Ektoplasma zusammenfassen, müßte sich aber dabei bewußt bleiben, daß es sich um Bildungen handelt, die verschieden sind von anderen so genannten Bildungen, z. B. dem Ektoplasma der Amöben. Auch in dieser Beziehung bestehen freilich Meinungsverschiedenheiten. So wollen manche Forscher, wie M i g u l a und S c h a u d i n n auf Grund von Bildern, die bei Geißelfärbungen plasmolysierter Bakterien erhalten worden sind, die Geißeln vom Ektoplasma ausgehen lassen. Wir mißtrauen mit A. M e y e r diesen Bildern, da sie, soweit sie überhaupt deutlich sind, ganz gut Kunstprodukte sein können.¹⁾ Wenn wir im Gegensatz dazu Membranen und namentlich Schleimhüllen mehr als Absonderungen, denn als lebende Bestandteile dieser selbst auffassen, so wird damit nicht bestritten, daß sie einen hohen biologischen Wert besitzen können, indem sie als Schutzorgane dienen, Antigene aufgespeichert enthalten u. dgl. (§ 4). Über die gröbere chemische Natur der Membran können wir bisher wenig Sicheres aussagen, da die mikro- und makrochemische Reaktion auf Zellulose oder Chitin nur ausnahmsweise ein Ergebnis geliefert hat (§ 27). Etwas besser sind wir über die chemische Zusammensetzung der Schleimhüllen, die übrigens zu wechseln scheint, unterrichtet (§ 27 u. 129), allerdings nur über die gröbere, während die feineren, aber biologisch gerade wohl wichtigeren Bestandteile der Hülle der Analyse entgehen und die Färbungen (G r a m, L ö f f l e r § 18, G i e m s a § 4) uns ebenfalls wenig sagen.

1) S. auch die Beobachtungen von E l l i s, Philos. Dissert. Marburg 1903, S. 31.

Man hat auch versucht, durch Untersuchungen im frischen und namentlich im gefärbten Zustand über den physikalischen Bau des Bakterienkörpers Klarheit zu gewinnen, wir erinnern an die Bemühungen Bütschlis, eine wabige Beschaffenheit, und an die Fischers und Migulas¹⁾, einen zentralen Saft Raum (Vakuole²⁾) in den Bakterien nachzuweisen. Sie haben keinen Anklang gefunden und verdienen es auch nicht, da selbst bei den größten Formen die betreffenden Bildungen nicht regelmäßig genug sind und bei den kleinen alle Versuche im Stich lassen.

§ 21. Körnerfärbungen. Über die Angaben derjenigen Forscher, die sich mit Erfolg bemüht zu haben glauben, einen oder mehrere echte Kerne im Inneren des eigentlichen Bakterienkörpers aufzudecken, sind wir oben (§ 17) kurz hinweggegangen, weil uns der Beweis für die Kernnatur der betreffenden Gebilde nicht erbracht zu sein scheint. Wenn wir davon absehen, daß sie manchmal offenbar optische Täuschungen der Kunstprodukte sind, daß die in anderen Fällen gefundenen Kerne überhaupt nicht Bakterien, sondern anderen Mikroben zugehören scheinen, so hat man sicher zum Teil auch Vorratsstoffe, wie Volutin und Fett (§ 22) oder Körnchen, die an der Scheidewandbildung³⁾ beteiligt sind, für echte Kerne angesehen oder auf metachromatische Färbungen und überhaupt auf Färbungsreaktionen zuviel Gewicht gelegt. Unseres Erachtens kann man z. B., wenn man die unregelmäßigen und gerade in den jüngsten und daher lebenskräftigsten Individuen oft negativen Ergebnisse der Romanowski- (Giemsa-) Färbung⁴⁾ bei Bakterien betrachtet, kaum im Zweifel sein, daß hierdurch Kerne nicht nachgewiesen werden können. Selbst das ist zweifelhaft, ob es hierdurch, wie durch andere Färbungen möglich ist, in den Bakterien das Vorhandensein echten Chromatins im Sinne der

1) Vgl. System der Bakterien, 1. Bd., 1897.

2) Anders sind zu beurteilen die sog. Zentralkörper, die Bütschli bei manchen großen, algenähnlichen Bakterien gefunden und mit den Zentralkörpern der Spaltalgen in Parallele gestellt hat. Bis in die letzte Zeit ist über die Kernnatur dieser Gebilde kein Einverständnis erzielt worden. Indessen darf zugegeben werden, daß hier eine Annäherung an den Kern vorliegt, aus deren Vervollkommnung sich von den Spaltalgen aus der wahre Algenkern entwickelt haben mag. Nicht wahrscheinlich aber ist es, daß sich der Kern der Protozoen (Flagellaten), die wir ebenfalls von den Bakterien herleiten (vgl. § 359) auf ähnliche Weise bzw. durch die Algenbakterien (Phykobakterien) hindurch entwickelt hat.

3) S. Lit. bei Ambroza a. O.

4) Zettnow, Zeitschr. f. Hyg. 30, 1899, und Zentr. Bakt. 29, 1900. Vgl. dazu Ficker, Arch. f. Hyg. 46. 187, 1903.

höheren Zellenlehre aufzudecken. Man traut diesem, wie wohl den meisten mikrochemischen Identifizierungsverfahren¹⁾ doch zuviel zu.

§ 22. Vorratsstoffe. Fett. Volutin. Das eine Gute haben, abgesehen von gewissen praktischen Anwendungen²⁾, die Körnchenfärbungen gehabt, daß sie den Anlaß gegeben haben zu einer genauen mikrochemischen Untersuchung der Bakteriengranula. Nachdem das Vorkommen von Schwefel (§ 208), Stärke, Glykogen u. dgl. (§ 27) in den Bakterien schon lange bekannt geworden war, haben sich namentlich A. Meyer³⁾ und seine Schüler, Gottheil, Ellis und Grimme⁴⁾ um den Nachweis anderer in Körnchenform abgeschiedener „Reserve-“ oder Vorratsstoffe verdient gemacht. Erstens handelt es sich um Fett. Bei allen möglichen sporen- und nichtsporenbildenden Bakterien, z. B. Erdbazillen, Pseudomonaden, Spirillen, säurefesten, namentlich aber auch Milzbrandbazillen wird es in mehr oder weniger großen Mengen, manchmal so reichlich gebildet, daß die Zellen prall mit Tröpfchen gefüllt zu sein scheinen. Freilich sind sie nicht von allen Forschern als Fett anerkannt, sondern nach dem Vorgang von Bunge⁵⁾ als „sporogene“ oder „sporoide“ Körner bezeichnet worden, von Dittrich und Liebermeister⁶⁾ als sauerstoffübertragende Körnchen, zuletzt von Ruzicka als „Plastin-gebilde“ bezeichnet worden. Mit der Sporenbildung haben sie sicher nichts zu tun, ja, sie finden sich mit Vorliebe gerade dann, wenn es nicht zu Sporenbildung kommt. Die Reaktionen stimmen auch durchaus mit denen von Fett überein, wie außer den genannten Forschern Selter⁷⁾ in meinem Laboratorium, Eisenberg⁸⁾ und auch später Dietrich⁹⁾ feststellten; sie sind nämlich kugelförmig und fettglänzend,

1) Hierher gehören auch die Versuche Ruzickas, Arch. f. Hyg. 51 und 64, Chromatin, Plastin usw. in den Bakterien nach der Methode von Schwarz u. a. darzustellen. Über deren Unsicherheit vgl. Zimmermann, Morph. und Physiol. des pflanzlichen Zellkerns, 1896, und weiter unten (§ 22) bei den Fettreaktionen.

2) Z. B. haben sich die von Babes, A. Neisser, Ernst zuerst beschriebenen Körner für die Trennung der Diphtherie- von den Pseudodiphtheriebazillen im großen und ganzen gut bewährt (M. Neisser). Über die Reaktionen dieser Diphtheriegranula s. u. Volutin. Vgl. Ficker Arch. f. Hyg. 46. Dort auch über die vermeintlichen Beziehungen der Körnchen zur Virulenz (vgl. § 329).

3) a. a. O. (§ 17) und Praktikum der botanischen Bakterienkunde, 1903.

4) Zentr. Bakt. 32 und 36, 352, 1904.

5) Fortschr. d. Mediz., 1895.

6) Zentr. Bakt. 32.

7) Ebenda, 37, 1904.

8) Ebenda 48, 1908 und 51, 1909.

9) Zentr. Path., 19, 1908.

färben sich namentlich in unfixiertem Zustand nicht mit den gebräuchlichen basischen und sauren Anilinfarben, wohl in alkoholischem Dimethylamidoazobenzol (gelb), Sudan III (rot), Indophenolblau, Dimethylparaphenylendiamin + alkalischem α -Naphthol (blau), und auch mit manchen gewöhnlichen Farbstoffen, z. B. Fuchsin, wenn gleichzeitig Beizung in derselben Naphthol- oder in alkalischer Phenol- oder Lugollösung erfolgt¹⁾, Jod allein färbt sie nur schwach gelb, Javellesche Lauge löst sie nicht, dagegen konzentrierte Chloralhydratlösung und heiße alkoholische Kalilauge. Die Säurefestigkeit, die von Bunge betont wurde, besteht nicht überall, wie ja überhaupt die Farbreaktionen je nach der Zusammensetzung des Fettes verschieden auszufallen, z. B. bei dem Fettwachs der säurefesten Bakterien zu fehlen scheinen. So kommt es nach Grimme, daß die Fetttropfen in Tuberkel- und Thimotheebazillen sich einerseits mit Hilfe der Fettfarben allein darstellen lassen, andererseits bei der gewöhnlichen Tuberkelbazillenfärbung als helle glänzende Lücken („Sporen“ älterer und neuerer Forscher²⁾) zwischen den säurefesten Bestandteilen hervortreten. Die Auffassung der Fetttropfen als Vorratsstoffe ist wohl ebenfalls nicht immer berechtigt, z. B. macht die Anhäufung des Fettes in den Milzbrandbazillen auf Glyzerinnährböden (Selter, Ruzicka) eher den Eindruck einer Entartungserscheinung. Das erinnert daran, daß auch die übertriebene Stärkebildung in den Buttersäurebakterien von Graßberger und Schattenfroh als Erkrankung (eine Art „Zuckerkrankheit“) betrachtet wird (§ 130).

Chemisch nicht so sicher bekannt wie die Fettkörner, aber mikrochemisch anscheinend genügend gekennzeichnet sind die von A. Meyer³⁾ Volutin (Volutanskugeln) genannten, auch in Form lichtbrechender Kugeln auftretenden Inhaltskörper des Spirill. volutans und vieler anderer Bakterien. Die bekannten Körner in Diphtheriebazillen sollen auch hierher gehören. Im Gegensatz zum Fett färben sich die Volutanskugeln mit den gewöhnlichen Anilinfarben (Methylenblau, Karbol-fuchsin), und zwar besonders tief und kräftig, so daß sie die Farben aus dem übrigen Bakterienleibe an sich reißen, wenn 1 prozentige Schwefelsäure zugesetzt wird. Mit Jod färben sie sich gelb, sie sind weder gram- noch säurefest. In Wasser von 28° lösen sie sich unter Quellung in 2 Tagen, bei 80—100° in einigen Minuten, nicht anders

1) Näheres über diese und andere Färbungen bei Eisenberg.

2) Vgl. die Doppelfärbung von Fontes, Zentr. Bakt. 49. 317, 1909 mit Ziehl und Gram und die von Betegk (ebenda 461) mit Silbernitrat und Karbol-fuchsin.

3) a. a. O. und Bot. Zeitung 1904. Vgl. Grimme a. a. O.

in Trypsin und Pepsinlösungen. 5 prozentige Schwefelsäure löst in 10 Minuten, gesättigtes Natriumkarbonat in einigen Minuten, während konzentrierte Chloral- und Javellesche Lösung in 5 Minuten, 10 prozentiges Kochsalz in 15 Minuten, Alkohol, Äther und Chloroform auch bei längerer Behandlung keine Wirkung entfalten. Nach A. Meyer handelt es sich um Eiweißkörper mit reichlichem Nukleinsäuregehalt, die anstelle des Fettes oder neben ihm als Vorratsstoffe dienen sollen. Das Volutin ist auch bei Pilzen, Spaltalgen und Protozoen weit verbreitet; nach Guillermond und Mawas¹⁾ bestehen die Körner der Mastzellen ebenfalls daraus.

Alle hier berichteten Tatsachen der mikrochemischen und -physikalischen Untersuchung sind gewiß wichtig genug, aber sie sind, wie wir schon in den einleitenden Worten dieses Kapitels bemerkten, nicht dazu angetan, uns einen genügenden Einblick in den feineren Bau des Leibes der Kleinwesen zu gewähren und vermögen uns namentlich nicht die stofflichen Grundlagen für die mannigfachen Leistungen derselben zu erschließen. Wir müssen uns deswegen in dieser Beziehung vorläufig genügen lassen an Vermutungen, z. B. an dem recht anschaulichen Bilde, das uns Hoffmeister²⁾ in einem Vortrage „Über die chemische Organisation der Zellen“ entwirft. Wir kommen weiter unten, wenn wir von dem Stoffwechsel der Kleinwesen sprechen, darauf zurück (vgl. § 67).

1) Soc. biol. 22. II. 1908.

2) Braunschweig 1901.

Kapitel II.

Chemische Zusammensetzung der Kleinwesen.

§ 23. **Analysenergebnisse.** Es ist klar, daß die Eigenschaften der Mikroorganismen von ihrer stofflichen Zusammensetzung abhängig sind. Nun fragt es sich, ob wir mit unseren jetzigen Mitteln imstande sind, die chemischen Bestandteile der Zellen scharf genug zu charakterisieren. Bestehen nachweisbare Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zwischen den Mikroorganismen und den höheren Lebewesen, zwischen den einzelnen Mikroorganismenarten und bei jeder Spezies wieder unter verschiedenen Entwicklungsbedingungen? Wir wollen hier gleich bemerken, daß ebensowenig wie die mikrochemischen Verfahren, die wir im vorigen Kapitel besprochen haben, die grobe chemische Analyse diese Aufgabe zu lösen imstande ist, und der ganzen Art des Verfahrens nach wohl auch kaum jemals dazu imstande sein wird. Zahlreiche Unterschiede werden freilich bei der chemischen Analyse gefunden, aber sie genügen kaum, um einige große Unterabteilungen der Mikroorganismen — etwa die Pilze, Bakterien und säurefesten Bakterien (Mykobakterien) voneinander zu trennen.

Über die Hauptergebnisse der bisherigen Untersuchungen belehren die Tafeln I, II und III. Die letzte Tafel gibt besonders gut vergleichbare Resultate, weil die Züchtungen und Analysen von Nicolle und Alilaire nach einheitlichem Verfahren ausgeführt wurden.

Die Trockensubstanz wird in der Weise erhalten, daß die von den Nährböden vorsichtig abgenommenen oder von flüssigen Kulturen durch Ausschleudern und Filtrieren getrennten Mikroorganismen gewogen werden, und mit diesem „feuchten Gewicht“ das Gewicht verglichen wird, das nach dem Trocknen bei 100—110° erhalten wird. Es ist klar, daß eine Fehlerquelle darin liegt, daß das in den kapillaren Zwischenräumen zwischen den Zellen festgehaltene Wasser mitgewogen wird. Im allgemeinen erscheint dadurch der Trockengehalt zu niedrig; nur bei den schon in frischem Zustande durch Luft voneinander getrennten Schimmelpilzsporen werden richtigere Zahlen erhalten werden. Am größten wird der Fehler sein bei den Bakteriensporen, die meist in einer sehr wasserreichen, aus den Resten der nicht zur Sporenbildung verwandten Leibesstoffe bestehenden Substanz eingebettet sind (s. u.).

Noch größer können die Fehler werden, die sich bei Bestimmung des **F e t t g e h a l t e s** (Ätherextraktes) ergeben, weil es ohne Zerstörung der Zellmembran und des Zusammenhanges des eigentlichen Zellkörpers nur unvollständig gelingt, das Fett aus dem letzteren auszuziehen. Man hat versucht, mit allerhand chemischen und physikalischen Mitteln zum Ziel zu gelangen. So bekamen z. B. N ä g e l i und L ö w bei anhaltender Behandlung scharf getrockneter Hefe mit kochendem Äther nur 1,85% flüssiges Fett, nach vorheriger Behandlung mit konzentrierter Salzsäure 4,6% Fettsäure, d. h. etwa 5,3% Fett. Ähnlich wirkt nach R u p p e l die Erhitzung unter Druck auf die Gewinnung des Fettes aus Tuberkelbazillen. In den meisten Fällen, wo man sich ohne solche Mittel beholfen hat, werden deshalb die Fettzahlen unserer Tabelle zu niedrig sein.

Für die anderen Bestimmungen ist die Undurchlässigkeit der Zellen ebenfalls sehr hinderlich, sie zwingt zu eingreifender Behandlung mit Lösungsmitteln, die geeignet sind, die Natur der Körpersubstanzen zu verändern. Zudem scheint die energische Einwirkung von Alkohol-Äther die Bakterienkörper noch unempfindlicher gegen die übrigen Extraktionsmittel zu machen (A r o n s o n). Fast alle diese Analysen stammen aus älterer Zeit.

Anm. zur Tafel I: a) S i e b e r, Journ. prakt. Chem. N. F, 23, 1881. b) M a r s c h a l l, Arch. Hyg. 28. bb) N i k o l s k y, Zentr. Bakt, 2. Abt. 12. 674, 1904. Nach S t u t z e r bestimmt. c) C r a m e r, Arch. Hyg. 13 und 28. d) N ä g e l i (und L o e w), Journ. prakt. Chem. N. F. 17. e) B r u h a t, zit. nach H e d r i c h, Deutsche Ärzte-Zeitg. 1904, 3. f) K a p p e s, Analyse der Massenkult. einiger Spaltpilze und der Soorhefe, Dissert. Leipzig 1890. g) N e n c k i und S c h a f f e r, Journ. prakt. Chemie N. F. 20. h) L ö w in N ä g e l i s Theorie der Gärung, S. 111. i) B r i e g e r, Zeitschr. physiol. Chemie 9. k) K a p p e s a. a. O. (unter f)). l) N i s h i m u r a, Arch. Hyg. 18. m) C r a m e r, Arch. Hyg. 16, 18 und 22. n) L y o n s, Arch. Hyg. 28. nn) R u b n e r, Arch. Hyg. 57. 178, 1906. o) D z i e r z g o w s k i und R e k o w s k i, Arch. sc. biol. Petersburg 1892. p) H a m m e r s c h l a g, Sitzber. Akad. Wiss. Wien 13. 12., 1888, Zentr. klin. Med. 1891, 1. q) K r e s l i n g, Zentr. Bakt. 30. 24. r) D y r m o n t, Arch. exp. Pathol. 21. s) S a l z m a n n, Chem.-physiol. Untersuch. etc., Phil. Dissert. Königsberg 1901. t) S t o k l a s a, Zentr. Bakt., 22. Abt., 21. 631, 1908 l) aus der Differenz berechnet. 2) davon 5,0 „Cellulose“ und 2,8 „Stärke“. 3) Darunter stickstoffhaltige Körper. 4) davon 11,1 Zellulose und 17,0 Stärke. 5) Extraktstoffe, darunter Leuzin und andere Aminosäuren, Dextrin, Glycerin etc. 6) Von mir nach dem N-Gehalt berechnet ($\times 6,25$). 7) Bei der Berechnung der N-Substanz als Eiweiß der Trockensubstanzbestandteile meist etwas weniger, manchmal auch etwas mehr als 100%. 8) Als Zellulose bezeichnet. 9) Chloroform-Alkoholextrakt. Die von K r e s l i n g angegebenen Zahlen sind von mir auf das Trockengewicht umgerechnet worden. 10) stammen aus einer anderen Analyse als die Zahl für das Eiweiß.

Tafel I. Chemische Zusammensetzung der Mikroorganismen.

Art der Mikroorganismen	In % der feuchten Substanz Trocken- substanz	In % der Trockensubstanz				
		Äther- extrakt	Alkohol- extrakt	Asche	Eiweiß	Kohle- hydrate
Schimmelpilze	a)	11,2—18,7	3,4—6,9	0,7—4,9	28,9—29,9	39,6—33,7 ¹⁾
"	b)	5,3	14,0	6,4	38,0	7,8 ²⁾
"	bb)	—	—	—	18,9—44,2	—
Schimmelsporen	c)	7,3	30,4	1,9	28,4	28,1 ⁴⁾
Hefe	d)	5	4 ⁵⁾	7	47	37
"	e)	1,5	—	6,4	69,6	23,6
Soorhefe	f)	4,3	—	10,8	76,2	—
Fäulnisbakterien	g)	6,0—7,9	—	3,0—4,7	84,2—87,5	—
Essigmutter	h)	—	—	3,4	11,2	—
Bac. pneumoniae	i)	1,7	—	30	42 ⁶⁾	—
Bac. prodigiosus	k)	4,8	—	13,5	71,2	—
Wasserbazillen	l)	5,1	3,2	11,2	63,5	12,2
Verschied. Bakterien	m)	9,1—24,0	—	7,8—33,9	45,3—73,1	—
"	n)	1,7—3,8	11,4—29,6	3,0—8,1	33,3—71,8	—
Proteusbazillen	nn)	—	—	—	74 ⁷⁾	—
Diphtheriebazillen	o)	1,6	2,2	4,6	63,4	28,0 ⁸⁾
Tuberkelbazillen	p)	27	—	8	36,9	28,1
"	q)	32,0	8,0 ⁹⁾	2,6	55,6	—
Milzbrandbazillen	r)	7,1	—	—	42 ¹⁰⁾	—
Milzbrandsporen	r)	8,7	—	2	70	—
Streptothrix odorifera	s)	2,2	—	9,2	46,3	—
Azotobacter chroococ- cum	t)	11,3 ¹⁰⁾	6,6 ¹⁰⁾	8,6	73 ¹¹⁾	—

Tafel II. Elementaranalyse der Mikroorganismen.

Art der Mikroorganismen.		Die Trockensubstanz enthält in %			Bemerkungen üb. die Berechnung
		Kohlenstoff	Wasserstoff	Stickstoff	
Schimmelpilze	a)	—	—	3,8	aschefrei
„	b)	46,4	7,0	5,3—5,6	fett- u. aschefrei
„	c)	—	—	7,5—8,3	aschefrei
„	cc)	44—56,5	7,0—9,1	2,3—6,6	fast aschefrei
„	d)	—	—	8—11	—
„	dd)	—	—	3,7—16,2	—
Schimmelpilzsporen	e)	48,9	6,5	4,6	aschefrei
Hefe	f)	47,9—50,0	6,5—6,7	9,8—11,8	aschefrei
„	g)	45,5—52,5	6,2—7,2	9,4—9,7	aschefrei
„	h)	48,6—49,3	7,1—8,2	7,8—10,5	aschefrei
„	i)	50,6	7,3	15,0	aschefrei
„	ii)	—	—	6,7—9,6	mit 6,5—10,8 Asche
Soorhefe	k)	—	—	12,2	—
Fäulnisbakterien	l)	53,1—53,8	7,8	13,8—14,3	fett- u. aschefrei
Essigmutter	m)	—	—	1,8	mit 3,4% Asche
Micrococcus	m)	—	—	10,65	mit 6,9% Asche
Essigbakterien	x)	—	—	4,8	—
Bac. pneumoniae	n)	—	—	6,7	mit 30,2% Asche
Milchsäurebakterien	x)	—	—	4,2—15,0	—
Bac. prodigiosus	o)	—	—	11,4	mit 13,5% Asche
Bac. xerosis	o)	—	—	12,1	mit 9% Asche
Wasserbazillen	p)	51,0	6,8	11,1	fett- u. aschefrei
Verschied. Bakterien	q)	48,9—51,8	6,5—7,5	9,4—15,0	aschefrei
Proteusbazillen	qq)	—	—	9,8	mit 8,1% Asche
Heubazillen	r)	—	—	5,3—11,2	—
Diphtheriebazillen	s)	48,9	8,6	11,2	mit 4,6% Asche
Tuberkelbazillen	t)	—	—	6,6	mit 6% Asche
„	u)	—	—	8,6	mit 2,6% Asche
„	uu)	50,18	7,33	9,87	fettfrei mit 6,95 % Asche. Phosphorgehalt 1,67 %, davon die Hälfte organisch gebunden.
Milzbrandbazillen	v)	—	—	6,3	—
Milzbrandsporen	v)	—	—	10	mit 2% Asche
Streptothrix odorifera	w)	—	—	7,4	mit 9,2% Asche
Amylobact. butylicum	z)	—	—	4,0	—
Azotobacter chroococcum	y)	—	—	9,8—13,1	aschehaltig

Anm.: a) S t u t z e r, Zeitschr. physiol. Chem. 6. b) S i e b e r, vgl. Taf. Ia). c) M a r s c h a l l, vgl. Taf. Ib). cc) M a z é, Annal. Pasteur 1902.

374. d) Czapek, Hofmeisters Beitr. 2. dd) Nikolsky, Zentr. Bakt., 2. Abt., 12. 674, 1904. e) Cramer, vgl. Taf. Ic). f) Schloßberger, Ann. Phys. und Chem. 80 (Duclaux). g) v. Wagner, zit. nach Duclaux, Mikrobiol. h) Hessenland, Zeitschr. f. Rübenzuckerind. 92. (Duclaux). i) Dumas, Traité de chimie (Duclaux). ii) Rubner, Arch. Hyg. 48. 310, 1904. k) Kappes, vgl. Taf. If). l) Nencki und Schaffer, vgl. Taf. Ig). m) Löw, vgl. Taf. Ih). Riemer, Arch. Hyg. 71. 171, 1909 bestimmte in frischen Kulturen des Staphylococ. pyogenes 8,3% Stickstoff. n) Brieger, vgl. Taf. Ii). o) Kappes, vgl. Taf. If). p) Nishimura, vgl. Taf. Il). q) Cramer, vgl. Taf. Im). qq) s. unter ii). r) Vincenzi, Zeitschr. physiol. Chem. 11. s) Dzierzowski und Rekowski, vgl. Taf. Io). t) Hammerschlag, vgl. Taf. Ip). u) Kresling, vgl. Taf. Iq). uu) Kutscher, Sitzber. Gesellsch. Beförd. Naturw. Marburg 1910. v) Dyrmont, vgl. Taf. Ir). w) Salzmann, vgl. Taf. Is). x) Kayser, Annal. Pasteur 94, 763 ff. y) Stoklasa, Zentr. Bakt., 2. Abt., 21, 506 und 629, vgl. Taf. If). Gerlach und Vogel finden 10—12% ebenda 8., 1902. z) vgl. Beijerinck Verh. Kon. Akad., Wetenschap. Amsterdam, 2. Sect. Deel I, S. 39, 1893.

Tafel III. Analysen von Nicolle und Alilaire.¹⁾

	Wasser- gehalt in %	In % der Trockensubstanz			Phosphor % im Fett ²⁾
		Stick- stoff.	Azeton- extrakt	Chloroform- extrakt ³⁾	
Rotz	76,5	10,5	11,7	8,6	2,5
Hühnercholera	79,3	10,8	7,5	6,3	2,4
Cholera	73,4	9,8	8,7	6,8	2,4
Dysenterie	78,2	8,9	12,8	10,6	1,6
Proteus vulgaris	80,0	10,7	10,9	7,1	1,6
Typhus	78,9	8,3	15,4	10,6	1,2
aspor. Milzbrand	81,7	9,2	6,3	1,5	0,9
Pseudotuberkulose	78,8	10,4	15,6	10,3	0,8
Bac. pneumoniae	85,5	10,4	15,4	10,3	0,8
Bac. coli	73,3	8,3	15,2	11,8	0,8
Bac. prodigiosus	78,0	10,5	9,0	6,6	0,5
Psittakosebac.	78,0	9,5	11,1	7,0	0,5
Diphtherie	84,5	—	7,0	5,2	0,2
Pyocyaneus	75,0	9,8	15,8	10,7	0,2
Lymphangitis- bazillus.	77,9	9,2	6,8	2,5	0,2
Hefe Froberg	69,2	10,0	4,2	2,9	0,0
Chlorella vulgaris.	63,6	3,9	21,1	12,8	0,0

1) Annal. Pasteur 1909, 7. (etwas verkürzt wiedergegeben). Sämtliche Bakterien wurden 24 Stunden bei 37° auf Fleisch-Kartoffelsaftagar, die Hefe einen Tag bei 30° auf Malzsyrup, die Algen 15 Tage bei 20° auf Kartoffelagar in großen verzinnten Kupferblechdosen gezüchtet.

2) Aus dem Azetonextrakt dargestellt.

3) d. h. wohl aus dem Chloroformextrakt.

Es ist anzunehmen, daß wir jetzt, wo wir durch E. und H. Buchner und Hahn¹⁾, R. Koch, Macfadyen und Rowland²⁾ mechanische Mittel kennen gelernt haben, um die Mikroorganismenzellen zu eröffnen, auch einwandfreiere chemische Analysen erhalten werden. Dies gilt insbesondere für die Bestimmung der Kohlehydrate und stickstoffhaltigen Substanzen, die vorläufig noch ziemlich zweifelhafte Ergebnisse gehabt hat (s. u.). Die Resultate der Elementaranalysen (Taf. II) werden allerdings durch die erwähnten Schwierigkeiten nicht beeinträchtigt, recht unsicher sind aber die Eiweißzahlen der Taf. I, die mit wenigen Ausnahmen auf Grund des Stickstoffgehalts — durch Multiplikation mit 6,25 — berechnet worden sind. Wir müssen erwarten, daß andere N-haltige Körper dabei vernachlässigt werden. Die „Kohlehydrate“ der Taf. I sind vielfach nur aus dem Rest berechnet worden, der nach Abzug des Äther- und Alkohol-extraktes, der Asche und des „Eiweißes“ verbleibt. In dem Alkohol-extrakt wird natürlich der größte Teil des Zuckers der Zellen enthalten sein. In dem „Rest“ der Tab. I werden wir, wo die Kohlehydrate nicht besonders bestimmt worden sind, diese neben den verschiedensten Substanzen zu suchen haben.

Selbst die Aschenbestimmungen sind nicht ganz richtig, da vielfach in den Extrakten noch mancherlei Bestandteile enthalten sind, und schon reichliches Auswaschen der Mikroorganismen ihnen einen sehr bedeutenden Teil der Mineralsalze entziehen kann (Raulin).

Mit diesen Einschränkungen nur können wir das Bild, das uns die Tafel I bietet, als zutreffend erachten. Einige Schlüsse kann man aber wohl aus ihr und aus Tafel II und III ableiten.

§ 24. Schlüsse aus den Analysen. 1. Der Wassergehalt der Mikroorganismen zeigt im großen und ganzen keine bedeutenden Verschiedenheiten. Er ist hoch, wenn man ihn mit demjenigen tierischer Organismen vergleicht, weicht dagegen kaum von demjenigen der höheren Pilze und Pflanzen ab. Stark abweichende Zahlen finden wir nur bei den Schimmelpilzsporen, die nach Cramer sehr wenig, und bei der Essigmutter, die nach Nägeli und Löw sehr viel Wasser enthalten. Beides ist charakteristisch. Die hohe Zahl für die Trockensubstanz der Sporen beweist uns, daß die Dauerformen der Schimmelpilze ein Protoplasma besitzen, das durch seinen geringen Wassergehalt sich von allen vegetativen Zellen unterscheidet. Bezeichnend ist auch, daß die geringe Quantität Wasser, die den Schimmelpilzen anhaftet, nach Cramer nicht in der Weise an die Zellen gebunden

1) S. bei der Zymasedarstellung § 89.

2) S. bei der Giftdarstellung § 272 ff.

ist, wie bei den übrigen Mikroorganismen, sondern als hygroskopisches Wasser zu betrachten ist. Im Gegensatz zu den letzteren nahmen die scharf getrockneten Sporen in feuchter Umgebung schnell das verlorene Wasser wieder auf. Durch diesen geringen Wassergehalt erscheint das Plasma der Sporen stärker lichtbrechend als die vegetativen Zellen, dadurch wird es auch widerstandsfähiger gegenüber schädigenden Einflüssen, wie z. B. der Erhitzung. So kommt es ferner, daß die Sporen vor der Keimung viel Wasser aufnehmen, daß sie quellen müssen.

Sehr wahrscheinlich haben auch die Dauerzustände anderer Mikroorganismen dieselbe Eigenschaft, so besonders die Sporen der Bakterien. Allerdings tritt das in der Analyse *D y r m o n t s* (Taf. I) wie in den Versuchen, die *Almquist* zur Bestimmung des spezifischen Gewichts vornahm¹⁾, kaum hervor. Wir wissen aber aus dem mikroskopischen Bilde, das versportete Milzbrandkulturen bieten, daß hier die Sporen in einer gallertartigen Masse, die von zerfallenden Stäbchen herrührt, eingebettet liegen. Offenbar bedingt diese den hohen Wassergehalt, während die Sporen selbst ein noch stärker konzentriertes Protoplasma haben, wie die Schimmelsporen²⁾. Ähnlich erklärt sich der verhältnismäßig hohe Wassergehalt der Essigmutter, der nach Tabelle I mehr als 98% beträgt. Die Bakterien selbst werden wohl nicht anders zusammengesetzt sein wie die übrigen Mikroorganismen, sie sondern aber mächtige Mengen schleimiger Zwischen substanz ab (s. *Bact. xylinum*, § 27), deren Wassergehalt maßgebend ist für die Analyse. Zur Ergänzung der Tabelle bemerke ich, daß ich wiederholt bei Ruhrbazillen (von Agarplatten abgekratzt) ein Trockengewicht von 25% gefunden habe. Das entspricht vielen der von *N i c o l l e* und *Alilaire* bestimmten Zahlen, während die übrigen Bakterienanalysen selten so hohen Trockengehalt ergeben haben. Letztere Forscher bringen wohl mit Unrecht, wie schon aus ihren eigenen Analysen hervorgeht (vgl. *Bac. pneumoniae*!) einen besonders hohen Wassergehalt der Bakterien zu der Gramfestigkeit in Beziehung. Nach unserer Auffassung (§ 18) liegt die Sache gerade umgekehrt, ist aber durch unsere Massenanalysen der Bakterien nicht festzustellen.

1) Zeitschr. f. Hyg. 28, 1898. Andere Bestimmungen des spezifischen Gewichts verschiedener Bakterien s. bei *Stigell* (Zentr. Bakt. 45, 1908). Auf Agaroberflächen fanden sich Schwankungen von 1,12 (*Subtilis*) bis 1,32 (*Staphylokokken*), bei Tuberkelbazillen solche von 0,887—1,287. Bouillonhäutchen ergaben 0,92—0,98.

2) *R e i n k e*, Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium zu Göttingen, H. 3, Berlin 1883, schließt aus seiner Analyse des *Äthaliūm septicum* auch bei der Sporenbildung in den Schleimpilzen auf eine Anhydridbildung im Protoplasma.

2. Auffällig hoch ist der Fettgehalt (Ätherextrakt) der Tuberkelbazillen nach Kresling und anderen Autoren (§ 26), er übersteigt mit 32% weit den aller übrigen Mikroorganismen der Taf. I. Nur ganz alte degenerierte Hefezellen sollen nach D u c l a u x¹⁾ einen ähnlichen Fettgehalt aufweisen.²⁾ Wahrscheinlich haben wir übrigens keine spezifische Eigenschaft der Tuberkelbazillen vor uns, sondern auch andere „säurefeste“ Bakterien teilen sie (s. u. N a s t i n, § 26).

3. Weit verbreitet ist die Ansicht, daß die N-haltigen Stoffe bei Bakterien und Hefepilzen der Regel nach die N-freien überwiegen, während das Gegenteil bei den Schimmelpilzen der Fall sei.³⁾ Zum mindesten läßt diese Regel zahlreiche Ausnahmen zu. So ist z. B. der Eiweißgehalt der sogenannten Essigmutter, einer Art von Bakterien, die ungewöhnlich dicke Zellhüllen ausscheidet (*B. xylinum*), ein ganz niedriger (Taf. I) und auch bei anderen Bakterien mit und ohne Schleimhüllen (z. B. Milchsäure, Heubakterien, *Amylobact. butylicum*) findet man ebenso kleine Stickstoffzahlen wie bei Schimmelpilzen. Auf der anderen Seite geben die Analysen, die von Schimmelpilzen vorliegen, durchaus kein einheitliches Bild. Die letzten Untersuchungen von C z a p e k am *Aspergillus niger* haben sogar bei diesem Pilz den hohen Stickstoffgehalt von 8 bis 11% festgestellt (Taf. II). In vielen Fällen lehrt allerdings schon der mikroskopische Augenschein, daß bei den Schimmelpilzen die membranbildenden stützenden Bestandteile einen größeren Teil der Substanz ausmachen als bei Hefen und Bakterien, werden doch gewöhnlich nur die Spitzen des Myzels vollständig vom Protoplasma erfüllt, während der ganze Rest im wesentlichen aus den Membranen besteht, die große Safräume einschließen. So kann es denn nicht Wunder nehmen, daß einige Pilze — freilich bei sehr mangelhafter Stickstoffzufuhr — sogar bis auf einen Stickstoffgehalt von 1% heruntergehen (G e r l a c h und V o g e l⁴⁾). Es ist übrigens selbstverständlich, daß, von allen übrigen Dingen abgesehen, das Alter der Kultur und die Art der Ernährung das Verhältnis der stickstofffreien und stickstoffhaltigen Stoffe bei allen Mikroorganismen beeinflussen werden (s. u.).

1) *Traité de microbiologie* 1. 166.

2) Das Sklerotium der *Claviceps purpurea* (Mutterkorn) enthält ebenfalls bis 35% Fett (F l ü c k i g e r).

3) Die höheren Pilze stimmen mit den Schimmelpilzen überein. Vgl. die beiden Taf. in Z o p f s „Pilze“, Breslau 1890, S. 119 und 121. Der Gehalt an Eiweiß schwankt von 11—51%, die Asche von 2—15%, das Fett von 1—10%, die Kohlehydrate von 37—82%.

4) *Zentr. Bakt.*, 2. Abt. 10, 643.

4. Eine wichtige Folgerung, die sich sofort aus den Tafeln ergibt, ist die, daß die Zusammensetzung der Organismen in weiten Grenzenschwankt. Es ist besonders das Verdienst von Cramer und seinem Schüler Lyons, das für die Bakterien nachgewiesen und begründet zu haben: die Bakterien vermögen sich in hohem Maße dem Nährboden anzupassen. So fand z. B. Cramer bei Züchtung der Cholera-bazillen in 1 prozentiger Sodabouillon 8—10% Asche, in 4 prozentiger Phosphatbouillon 20—25% und in 3 prozentiger Kochsalzsodabouillon 22—28%¹⁾, ferner auf der peptonfreien Uschinsky-Lösung einen Eiweißgehalt von 34 bis 60%, auf Sodapeptonbouillon einen solchen von 62 bis 65%. Eine verhältnismäßig geringe Steigerung des N-Gehalts bemerkte Cramer, wenn er statt einer 1 prozentigen eine 5 prozentige Peptonbouillon benutzte. Lyons sah bei mehreren schleimbildenden Bazillen mit einer Steigerung des Zuckergehalts in der Nährlösung von 1 bis 10% die N-freie Substanz zu-, die N-haltige abnehmen. Daran sind das Fett (Ätherextrakt) bis zu einem mäßigen Grade, die alkohollöslichen Extraktstoffe und der „Rest“, d. h. wohl Kohlehydrate in erster Linie beteiligt. Andere Schwankungen in der Zusammensetzung zeigen sich, wenn man die Wachstumsbedingungen (Temperatur) verändert oder Kulturen verschiedener Entwicklungsstadien vergleicht. So fand z. B. Cramer den Trockengehalt von Bakterien, die bei Bruttemperatur gewachsen waren, höher als bei solchen, die er bei Zimmertemperatur gezüchtet hatte, ebenso bei jungen Kulturen höher als bei alten.

Auch bei anderen Mikroorganismen, z. B. den Hefepilzen ist man auf solche Veränderlichkeit gestoßen. So erhielt Duclaux (a. a. O.) aus 15 Jahre alter Hefe 20—30% und selbst über 50% Fett und dabei gleichzeitig nur 2,7% Stickstoff, während frische Hefe nur wenige Prozente Fett und 8,9% Stickstoff enthielt. Wijsman²⁾ fand sogar binnen wenigen Stunden beträchtliche Veränderungen im N-Gehalt der Hefe. So soll dieselbe während der Gärung von einem Anfangswert von 7,1% schon nach einer Stunde auf 9,9 gestiegen sein, sich dann einige Stunden auf der Höhe gehalten und nach 10 Stunden nur noch 6,4% betragen haben. Ähnliche Unterschiede fand Kayser (Taf. II) bei Milchsäurebakterien in verschiedenen Stadien der Gärung.

1) Schon Raulin sah den Aschegehalt des *Aspergillus niger* von 2 auf 5 und 6,4% steigen, wenn er die Konzentration der Mineralbestandteile in der Nährlösung von 0,2 auf 1,7 und 2,7% erhöhte.

2) Ref. Kochs Jahresber. 1891, 120.

So enthielt eine der von ihm untersuchten Arten am 3. Tage 9,1%, am 12. Tage 10,8, am 45. Tage 11,8% Stickstoff. Gleichzeitig schritt die Zuckerzersetzung fort, während die Vermehrung der Bakterien bald zum Stillstand zu kommen schien. K a y s e r stellte in einigen anderen Versuchen noch merkwürdigere Differenzen zwischen den Bakterien, die bei Sauerstoffzutritt und -abschluß gewachsen waren, fest, sie enthielten:

	bei Sauerstoffzutritt	bei Sauerstoffabschluß
im I. Versuch	6,5%	4,2% Stickstoff
„ II. „	13,6%	9,5% „

waren also stets stickstoffreicher bei ungehinderter Luftzufuhr. Wie es kommt, daß die Zahlen im ersten Versuch halb so klein waren, als im zweiten, ist nicht ersichtlich. Es handelte sich um dieselben Mikroben und um eine ähnliche Nährlösung.

Bei dem Schimmelpilz *Mucor Amylomyces* stellte N i k o l s k y (Taf. I und II) sogar Schwankungen¹⁾ des Stickstoffgehalts von 3,7 bis 16% fest bei Ernährung mit einer und derselben Nährlösung (Maltose), und zwar war der Stickstoff am reichlichsten vertreten, wenn die Kultur jung war (4 Tage) und nahm mit steigendem Alter (bis zu 14 Tagen geprüft) immer weiter ab. Das Wachstum schritt dabei immer fort, obwohl langsamer. Die absolute Menge des Stickstoffs in der Ernte stieg zuerst, sank aber in den letzten Tagen. Auch bei Ernährung mit Glykose und Saccharose zeigten sich ähnliche Verhältnisse. Wurde aber eine wenig geeignete Nahrung gewählt, wie Fruktose, Raffinose und Dextrin, so blieb der Stickstoffgehalt andauernd auf der Höhe von 9% und mehr. Die Zahlenreihen der Analysen N i k o l s k y s zeigten allerdings einige unerklärliche Unregelmäßigkeiten. So schwankten sie z. B. in dem obigen Beispiel (abgekürzt) wie folgt:

Versuchstag	Trocken- substanz	Stickstoff- gewicht	Stickstoff- gehalt	Bemerkungen
4. Tag	0,46 g	0.075 g	16,2%	Zu dem Versuche dienten 6 Kolben, die mit gleichem Nährmaterial beschickt, in derselben Weise geimpft und gehalten waren.
6. „	0,51 „	0,043 „	7,1 „	
8. „	1,12 „	0,062 „	5,6 „	
10. „	1,67 „	0,104 „	6,2 „	
12. „	1,72 „	0,090 „	5,2 „	
14. „	1,83 „	0,068 „	3,7 „	

1) Die höheren Prozentzahlen (bis 36!) beruhen offenbar auf fehlerhaften Bestimmungen, die bei allzugeringer Ernte verständlich sind.

Zum Teil spielen hier mit die Veränderungen, die im Hungerzustande und bei der sogenannten Selbstverbrennung (§ 226), Selbstvergärung (§ 91) und Selbstverdauung (§ 166) der Mikroben eintreten. Daß dabei einerseits große Kohlenstoffverluste, z. B. durch Vergärung des Glykogens in der Hefe, andererseits große Stickstoffverluste, z. B. bei der Autolyse der Proteusbazillen eintreten, ist sicher. Aber auch umgekehrt können dabei vielleicht aus Eiweißstoffen Kolhehydrate hervorgehen. Einige Angaben darüber, die von M a z é stammen (vgl. Taf. II cc), sollen schon hier Platz finden. Nach ihm kann man aus Kulturen der *Eurotiosis Gayoni* auf Zucker- bzw. Alkoholnährböden durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure bei 120° umso mehr (16—42%) zuckerartige Stoffe gewinnen, je älter die Kulturen sind. In einer Versuchsreihe sank bei Sauerstoffzutritt das Trockengewicht im Zeitraum von 6 bis 25 Tagen von 330 auf 195 mg, während der genannte Extrakt von 87 bis 108 mg stieg und der Stickstoffgehalt von 5 bis 6% auf 2,9—3,5% fiel. Gleichzeitig schwand übrigens das Fett des Myzels fast völlig (von 20,6 bis 2,6%). Auch bei der Anaërobiose trat der Stickstoffverlust ein, nicht der Fettverlust. Verfasser ist geneigt, den Zuwachs an Kohlehydraten aus den zu Verlust gegangenen Eiweißstoffen herzuleiten.

Unglaublich klingt die Angabe F e r m i s¹⁾, es solle Schimmel und Hefen geben, die auf salz- und N-freien Nährböden wachsen und selbst N-frei bleiben (vgl. oben G e r l a c h und V o g e l).

Von den Unterschieden, die durch die Sporenbildung bedingt werden, wurde schon gesprochen.

Wenn wir uns jetzt zu den einzelnen Bestandteilen wenden, die den Körper der Mikroorganismen zusammensetzen, so müssen wir leider von vornherein auf die Unvollkommenheit unserer Kenntnisse, die sich zum Teil durch die oben angedeuteten Schwierigkeiten der Untersuchung erklärt, hinweisen. Ein Hauptmangel vieler der vorliegenden Analysen besteht auch darin, daß sie nicht untereinander vergleichbar sind, weil sie an verschiedenen und oft nicht einmal genügend bekannten Mikroorganismen und mit verschiedenen Methoden gewonnen sind.

§ 25. Proteinstoffe und deren Abkömmlinge. Die ersten Autoren, die sich mit chemischen Untersuchungen von Bakterien befaßten, N e n c k i und S c h a f f e r (Taf. I auf S. 52) schlugen aus Kulturen von Fäulnisbakterien in 2% Gelatinelösung oder in 3,3 prozentiger Lösung von schleimsauren Ammoniak die Bakterien durch Kochen mit 2,5 prozentiger Salzsäure nieder, wuschen den Niederschlag mit Wasser aus, trockneten und extrahierten ihn mit Alkohol und Äther, digerierten ihn auf dem Wasserbade mehrere Stunden lang mit 0,5 proz.

Kalilösung, wobei nur ein geringer Rest (die Membran? § 13 u. § 27) übrig blieb, und fällten schließlich nach Neutralisierung des Alkalis durch Salzsäure bis zu schwach saurer Reaktion mit Hilfe von konzentrierter Kochsalzlösung oder Eintragen von Steinsalz bis zur Sättigung einen eigentümlichen Körper, den sie *Mykoprotein* nannten. Dieser Stoff ist frisch dargestellt in Wasser, Säuren und Alkalien leicht löslich, wird aber nach dem Trocknen bei 110° von Wasser nicht mehr völlig gelöst. Die wässrige Lösung reagiert schwach sauer. In Lösungen neutraler Salze ist das Mykoprotein unlöslich und wird aus saurer, nicht aus alkalischer Lösung durch gesättigte Salzlösung gefällt. Seine Lösungen geben mit Ferrocyankalium, Gerbsäure, Pikrinsäure und Quecksilberchlorid starke Niederschläge. Salpetersäure gibt nur eine schwache Trübung und keine *Xanthoproteinreaktion*. Die *Millersche Reaktion* und die *Biuret-Probe* fallen positiv aus. Durch Alkohol wird die wässrige Lösung nicht gefällt. Die Elementaranalyse ergab in 4 Bestimmungen:

Mykoprotein aus Bakterien (aschefrei): 52,1—52,6% C.
 7,3— 7,8% H.
 14,5—14,9% N.

Das entspricht etwa der Formel $C_{25}H_{42}N_8O_9$. Weder Schwefel noch Phosphor war in der Substanz nachweisbar. Da Nencki und Schaffer aus dem Gewicht der entfetteten Bakterien 40—50% reines Mykoprotein darstellen konnten, und sie die elementare Zusammensetzung der ganzen Bakterien (s. Taf. II) sehr ähnlich fanden, schlossen sie, daß das Mykoprotein bei weitem den größten Teil des Bakterienkörpers (90%) ausmache. Auch aus Hefe, nicht aus Schimmelpilzen (Sieber) wurde von den Autoren durch Ausziehen mit verdünnter Salzsäure, Fällung mit Steinsalz und Behandlung mit Alkohol und Äther ein ganz ähnlicher Stoff gewonnen, der in 2 Bestimmungen enthielt:

Mykoprotein aus Bierhefe (aschefrei) 52,1—52,5% C.
 7,6% H.
 14,6—14,9% N.

Schloßberger¹⁾ hatte schon durch Ausziehen der entfetteten Hefezellen mit verdünnter Kalilauge und Neutralisation des Filtrates einen Eiweißkörper erhalten, der auch schwefelfrei war und aus 55,5% C, 7,5% H, 14,9% N bestand. Nach Nencki und Schaffer wäre hierin noch eine alkohollösliche eiweißartige Substanz enthalten ge-

1) Ann. Chem. Pharm. 51. 205.

wesen, denn wenn sie den Niederschlag aus ihrem salzsauren Hefeauszug nur mit Äther behandelten, bekamen sie ein Präparat, das fast genau die gleiche Zusammensetzung wie das von Schloßberger gefundene hatte.

Wenn es hiernach schien, als ob in dem Mykoprotein eine gut charakterisierte, den Mikroorganismen eigentümliche Eiweißsubstanz gewonnen wäre, so haben die späteren Untersuchungen das leider nicht bestätigt, da das Mykoprotein niemals wiedergefunden worden ist. Ob die besondere Beschaffenheit desselben sich aus der die Zellsubstanz stark angreifenden Darstellungsmethode erklärt, wie man anzunehmen wohl ein Recht hätte, oder aus der Eigentümlichkeit der untersuchten Bakterien, mag dahingestellt bleiben. Die letztere spielt sicher eine wichtige Rolle. Jedenfalls ist es vielfach sonst gelungen, aus Mikroorganismen Eiweißstoffe zu erhalten, die sich den bekannten namentlich auch in ihrem Schwefelgehalte¹⁾ anreihen. Wir zählen hier die von den verschiedenen Forschern erhaltenen Ergebnisse auf.

Schon das von Nencki selbst und seinem Schüler Dyrmon²⁾ aus Milzbrandbazillen und Sporen gewonnene Anthraxprotein unterscheidet sich durch seine Zusammensetzung (52,6% C, 6,8% H und 16,2% N) und seine Reaktionen weniger von den gewöhnlichen Eiweißstoffen, wenn es auch noch als schwefelfrei beschrieben wird. Nencki selbst vergleicht das Anthraxprotein einerseits den Schleimstoffen, andererseits den Pflanzenkaseinen. Ebenso wenig gelang es Brieger³⁾, aus den Leibern des *Bac. pneumoniae* Mykoprotein darzustellen. Die organische Grundsubstanz der Bakterien ergab Eiweißreaktionen, enthielt aber nur 9,75% Stickstoff, muß also mit anderen Stoffen stark gemischt gewesen sein. Wie Nencki stellte Buchner⁴⁾ seine hitzebeständigen Bakterienproteine, insbesondere das Pneumobazillen- und *Pyocyaneus*protein durch Digerieren der Bakterien mit verdünnter Kalilauge dar. Sie unterschieden sich aber von dem Mykoprotein durch den positiven Ausfall der Xanthoproteinreaktion, die Fällbarkeit durch Alkohol und verdünnte Säuren, die Nichtfällbarkeit durch Quecksilberchlorid. Übrigens betrug die Ausbeute nur etwa $\frac{1}{5}$ der Trockensubstanz. Andere Bakterien, z. B. *Bac. prodigiosus*, ergaben sogar nur Spuren von Protein.

1) Rubner (Arch. Hyg. 57, 180) fand das Verhältnis zwischen dem Stickstoff- und Schwefelgehalt bei *Proteus*bazillen in Fleischextrakt ziemlich beständig (1 : 0,05—0,08), in Agarkulturen 1 : 0,14.

2) Arch. exp. Path. Pharm. 21.

3) Zeitschr. physiol. Chemie 9.

4) Berl. klin. W. 1890, 30 und 47.

Eine Elementaranalyse wurde von **B u c h n e r** nicht gemacht. Später stellte **B u c h n e r**¹⁾ nach dem Vorgang von **R ö m e r** ähnliche Proteine her durch einfaches längeres Auskochen der Bakterienleiber mit Wasser, das besonders wirksam war, wenn die Bakterien vorher scharf getrocknet waren. Die Menge der Substanz wurde dadurch so gesteigert, daß sie bis zu $\frac{4}{5}$ der Trockensubstanz betrug. Von den alkalischen Auszügen unterschieden sich die so hergestellten Extrakte dadurch, daß sie durch schwaches Ansäuern nicht mehr gefällt wurden. Genaue Untersuchungen dieser sicher stark veränderten Substanzen fehlen (vgl. § 280).

Wohl charakterisierten Eiweißstoffen, und zwar einem **G l o - b u l i n** und einem **A l k a l i a l b u m i n a t** entsprachen die Substanzen, die **H e l l m i c h**²⁾ durch sehr vorsichtige Behandlung (Ausziehen mit 5—6 prozentigen Ammonsulfat und 0,5% Sodalösung in der Kälte) aus Heubazillen darstellte. Die gewonnenen Mengen scheinen aber nur klein gewesen zu sein, auch ist das Verfahren sonst ohne Erfolg (**B u c h n e r**).

Sehr ausführlich sind schon die älteren Studien von **N ä g e l i** und **L ö w**³⁾ über die Hefe. Sie erhielten aus Hefezellen, die sie während eines Jahres in 1 prozentiger Phosphorsäure mazeriert und dann elfmal binnen 20 Tagen mit Wasser gekocht hatten, 36% „gewöhnliches **A l b u m i n**“, das dem Eieralbumin am nächsten verwandt war, 9% leicht zersetzbares „**P r o t e i n**“, das teilweise alkohollöslich war und auch in seinen übrigen Eigenschaften dem **G l u t e n k a s e i n R i t t h a u s e n s** entsprach, ferner 2% **P e p t o n** und etwas **Leucin**, nebst Spuren von **Guanin**, **Xanthin**, **Sarkin** und anderen Extraktstoffen, die wohl anderer Herkunft waren wie **Glyzerin**, **Bernsteinsäure**, **Cholestearin**.

Daß echtes Eiweiß ein Hauptbestandteil der Hefezellen ist, haben auch spätere Untersuchungen bestätigt. Sehr einfach gelingt die Darstellung durch folgendes Verfahren⁴⁾, das auch technische Verwertung gefunden hat⁵⁾; Frische, gut abgepreßte Hefe wird mit Äther innig

1) Münch. med. W. 1891, 49.

2) Arch. exper. Path. und Pharm. 26, 346.

3) Journ. prakt. Chem. N. F. 17.

4) Es ist wahrscheinlich, daß man auch bei gramnegativen Bakterien auf ähnliche einfache Weise Eiweißstoffe der Leibessubstanz gewinnen kann. Bei der „Aggressin-Darstellung“ (§ 320) von Ruhr- und anderen Bakterien erhält man durch 24 stündiges Ausziehen mit Wasser oder Kochsalzlösung bei 20—37°, schneller bei 60° mit oder ohne Schütteln bis zu 25—30% der Trockensubstanz. Genauere Untersuchungen dieser eiweißreichen Lösungen fehlen.

5) Über andere technische Verfahren zur Gewinnung eiweißreicher Hefeextrakte s. in **Lafars Handb. techn. Mykol.** 5. 123, 1905.

durchmischt und bei möglichst niedriger Temperatur über Nacht stehen gelassen. Am folgenden Morgen hat sich die Hefemasse durch Selbstverdauung in einen dünnen Brei verwandelt, aus dem sich nach Anrühren mit viel Wasser ein schleimiger Bodensatz und darüber eine klare Flüssigkeit absondert. Die letztere enthält das Eiweiß, das nach Ansäuern mit Essigsäure durch Kochen abgeschieden wird. Schröder¹⁾ fand als Zusammensetzung dieses Hefeeiweißes:

52,4% C, 6,9% H, 15,8% N, 0,72% S, 0,06% P nebst 0,14% Asche. Er gewann daraus durch Spaltung mit Säuren neben viel Aminosäuren (70,5% des Stickstoffs, darunter namentlich Leucin, wenig Tyrosin und Phenylalanin, kein Glycocoll), in bedeutender Menge Basen bzw. Diaminosäuren, und zwar 11,9% des Stickstoffs als Arginin und Histidin, 11,0% als Lysin. Cystin wurde in Spuren, eine Kohlehydratgruppe nicht erhalten.

Während Nägeli und Löw das Vorhandensein eines besonderen phosphorhaltigen Proteinstoffes (Nuklein) in der Hefe nicht annehmen wollten, wiesen Hoppe-Seyler²⁾, Kossel³⁾ und Stutzer seine Existenz nach. Kossel erkannte sogar in der Hefe ein besonderes geeignetes Material zur Darstellung der Nukleine und zum Nachweis ihrer Zusammensetzung. Altmann stellte aus ihnen zuerst die Nukleinsäure dar, Kossel fand, daß sie beim Sieden mit verdünnter Säure neben den spurenweise schon von Nägeli und Löw beobachteten Nukleinbasen (Xanthinkörpern) reduzierenden Zucker (Glykose und Pentosen⁴⁾ abspalten.

Nach Stutzer⁵⁾ verteilt sich der Stickstoff in Schimmel- und Hefepilzen folgendermaßen: Es enthalten Stickstoff:

Schimmel	Hefe	
3,78%	8,65%	im ganzen
1,49 „	5,51 „	in verdaulichem Eiweiß,
1,54 „	2,26 „	in unverdaulichem „Nuklein“,
0,75 „	0,88 „	in „Amiden“ und Peptonen.

Wollte man in der gleichen Weise nach der Verdaulichkeit im Magensaft den Nukleingehalt der Bakterien bestimmen, so würde man wahrscheinlich (s. Kap. I § 10) den größten Teil ihres Körpers als Nuklein bezeichnen müssen (s. u.).

1) Hofmeisters Beitr. chem. Phys. 2, 389.

2) Medizin. chem. Untersuchungen.

3) Dubois-Reymonds Arch. f. Phys. 1891—93.

4) Vgl. L e v e n e, Zeitschr. physiol. Chem., 37. 402, 1903.

5) Zeitschr. physiol. Chem. 6.

Die Nukleinbasen stellten v. L e h m a n n ¹⁾ und N i s h i m u r a ²⁾ quantitativ aus der Hefe dar. Es bestimmten

	Xanthin	Guanin	Adenin	Hypoxanthin
v. Lehmann	0,—0,05	0,—0,124	0,22—0,29	% d. Trockensubstanz,
Nishimura	0,0265	0,006	0,07	0,07 % d. Trockensubstanz.

Später isolierten A s c o l i ³⁾ und L e v e n e ⁴⁾ aus Hefenuklein auch die Muttersubstanz des Thymins (Uracil) und das Cytosin.

Das am wenigsten eingreifende Verfahren zur vollständigen Gewinnung der Eiweißstoffe aus Hefezellen besteht in der Preßsaftdarstellung nach E. und H. B u c h n e r und M. H a h n (vergl. Zymase § 89). Der ursprünglich schwach saure Saft hat nach E. B u c h n e r ⁵⁾ ein spezifisches Gewicht von 1,027—1,057, einen Trockengehalt von 8,5—14,3% mit 5—6% gerinnbarem Eiweiß, 0,8—1,4% Gesamtstickstoff, 0,228% organischem Phosphor, 0,065% organischem Schwefel, 1,3—1,8% Asche. Schon bei 35—40° gerinnt ein Teil des Eiweißes, bei höherer Temperatur erstarrt die ganze Masse. W r o b l e w s k i ⁶⁾ fand im Preßsaft außer stickstofffreien Körpern (Kohlehydraten) Lezithin, Albumin, Globulin, Nuklealbumin und mucinartige Körper, Proteosen, Peptone, Tyrosin, Leucin, Glutaminsäure, Xanthinkörper und andere Basen⁷⁾.

Die Bedeutung der phosphorhaltigen Eiweißstoffe ist auch für die Bakterien festgestellt worden. So fand N i s h i m u r a (s. o.) in einem Wasserbazillus von Xanthinbasen 0,07% Xanthin, 0,14% Guanin, 0,08% Adenin, kein Hypoxanthin in der Trockensubstanz.

Schon vor N i s h i m u r a hatte übrigens v a n d e V e l d e ⁸⁾ bei der Analyse des Bac. subtilis Nuklein nachgewiesen. L u s t i g und G a l e o t t i ⁹⁾ stellten dann zuerst aus Pestbazillen durch Ausziehen mit verdünnter Kalilauge in der Kälte und Niederschlagen mit Essigsäure oder Ammonsulfat ein N u k l e o p r o t e i d dar, aus dem sie Guanin gewinnen konnten; G a l e o t t i ¹⁰⁾ bestimmte in einem auf

1) Zeitschr. physiol. Ch. 9.

2) Arch. Hyg. 18. 325.

3) Zeitschr. physiol. Ch. 31.

4) Ebd. 39.

5) Zymasegärung 1903.

6) Zentr. Physiol. 1898. 697; Journ., prakt. Chem. 64. 1, 1901.

7) Hier sei auf die ähnliche Zusammensetzung des von R e i n k e und R o d e w a l d (Unt. bot. Inst. Göttingen 1881) untersuchten Protoplasmas des Äthelium septicum, eines Schleimpilzes, hingewiesen. Analysen von Protozoen liegen nicht vor.

8) Zeitschr. phys. Chem. 8.

9) Deutsch. med. W. 97. 225.

10) Zeitschr. phys. Chem. 25.

ähnliche Weise erhaltenen „Nukleoproteid“ des *Bac. ranicida* den Gehalt an Stickstoff auf 12, an Phosphor auf 1—1,8%. Auf Grund ihrer Studien über die *Sarcina lutea* und den *Bac. coli* betrachten *V a u g h a n*, *W h e e l e r* und *L e a c h*¹⁾ die Bakteriensubstanz als im wesentlichen aus „Glykonukleoproteiden“ bestehend. Freilich scheint der Gegenstand ihrer Untersuchungen nicht gerade glücklich gewählt zu sein, wenigstens mußte *W h e e l e r*, um überhaupt einen Eiweißstoff aus den Leibern der *Sarcina lutea* zu gewinnen, sie bei 120° mit 10 proz. Kalilauge kochen und erhielt dabei nach Fällung mit Salzsäure und Alkohol nur etwa 4% der ursprünglichen Trockensubstanz, einen Körper, der zwar 0,86% Phosphor enthielt und die Furfurolreaktion, aber nicht einmal die gewöhnlichen Eiweißreaktionen gab. Xanthinbasen wurde nicht hieraus erhalten, aber aus einem schwefelsauren Auszug der Bakterien, übrigens auch nur in ganz geringer Menge. Nach *C a r a p e l l e*²⁾ wäre auch in den *Prodigosus*bazillen ein Glykonukleoproteid enthalten.

Befriedigendere Resultate bekam *A r o n s o n*³⁾ mit Diphtheriebazillen. Zunächst erhielt er durch Ausziehen mit verdünntem Alkali in der Kälte, bei 100° und 130° und Fällen mit Essigsäure und saurem Alkohol ziemlich viel Eiweiß (ca. 15%) neben Nukleoproteiden, die Xanthinbasen und Pentosen abspalteten, und aus dem essigsauren Filtrat durch Alkohol noch kleinere Mengen Nukleinsäuren, die durch ihre Zersetzungsprodukte Xanthinbasen, Pentosen und Phosphorsäure charakterisiert waren.

Aus Typhusbazillen will *P a l a d i n o - B l a n d i n i*⁴⁾ ein Nuklein und ein Nukleoalbumin isoliert haben (vgl. *Gamaleïa* § 284).

Durch Ausziehen mit Kupferazetatlösung und weitere Behandlung dieser Lösung stellte *I w a n o f f*⁵⁾ aus den Milzbrand-, *Pyocyaneus*- und *Megatherium*bazillen ebenso wie aus Schimmelpilzen Nukleoproteide dar.

*S t o k l a s a*⁶⁾ bestimmte (wie oben *S t u t z e r* bei Pilzen) bei dem Stickstoff assimilierenden *Azotobacter chroococcum* nach Entfernung der äther- und alkohollöslichen Substanzen den Gehalt an im Magensaft verdaulichen Eiweißstoffen und unverdaulichen „Nukleinen“. An ersteren fanden sich etwa 20% (14,7% N und 0,6% P),

1) Transactions of the Association of american physicians 1902, 243 ff.

2) Zentr. Bakt. 44. 440, 1907.

3) Arch. Kinderh. 30.

4) Rif. medica 1901, ref. Baumg. Jahresber. 1901, 228.

5) Hofmeisters Beitr. 1. 524, 1902.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 629, 1908.

am letzteren 80% (mit 15,8% N und 3,9% P). Die Nukleine enthielten die Basen Guanin, Adenin und Hypoxanthin.

Zahlreich sind die Arbeiten über die Stickstoffsubstanz des *Tuberkelbazillus*. Schon *Hammer Schlag* (vgl. Taf. I S. 52) gelang es, mit Alkalien einen Eiweißkörper aus den Bazillen auszuziehen, der durch Ammoniumsulfat fällbar war. *v. Hofmann*¹⁾ erhielt durch verschiedene Methoden (Ausziehen mit Wasser in der Kälte, mit 1%iger Salzsäure und 2%iger Kalilauge) 6 verschiedene Eiweißkörper, die zusammen 25% der trockenen Tuberkelbazillensubstanz ausmachten. *Klebs*²⁾ entfettete die Bazillen, verdaute sie mit Pepsin und Salzsäure und zog dann aus dem Rest mit Alkalien einen Körper aus, der sich als ein Nuklein mit 8—9% Phosphor erwies. *H. Buchner* und *M. Hahn*³⁾ wandten die Preßsaftmethode auch auf Tuberkel-, Typhus-, Cholera-, Milzbrandbazillen und Staphylokokken an, scheinen aber die so gewonnenen Plasmine nicht näher untersucht zu haben. Den größten Teil der Eiweißkörper, die durch Essigsäure in der Kälte gefällt werden und sich im Überschuß nicht wieder lösen, betrachten sie als Nukleoalbumin. *Ruppel*⁴⁾ führte diese Untersuchungen weiter, indem er nach dem Vorgange von *R. Koch*⁵⁾ die Tuberkelbazillen in trockenem Zustande zerrieb, bis keine unversehrten Bazillen mehr vorhanden waren. Die Substanz der verkleinerten Bazillen löste sich jetzt etwa zur Hälfte in Wasser, der ungelöste Teil kann durch Zentrifugierung getrennt werden. Die Lösung reagiert schwach alkalisch oder neutral, enthält keine koagulierbaren Eiweißkörper und liefert von allen Farbreaktionen der Eiweißkörper nur die Biuret-Reaktion. Sie besitzt die Eigenschaft, genuine Eiweißkörper aus ihren Lösungen niederzuschlagen. Essigsäure erzeugt in der Flüssigkeit eine starke Fällung, die sich in einem Überschuß der Säure nicht löst, in verdünnten Alkalien löslich ist und die etwa 4% Phosphor enthält und die Biuretprobe gibt. Durch Ausschütteln mit 1 prozentiger Schwefelsäure wird sie gespalten in einen wasserlöslichen Rückstand, der 9,4% Phosphor enthält, genuine Eiweißkörper zu fällen imstande ist und sich auch sonst als eine Art Nukleinsäure erweist, *Ruppels Tuberkulinsäure*⁶⁾, und ein phosphorfrees Produkt, das aus

1) Wien. klin. Woch. 1894, 38.

2) Zentr. Bakt. 20. 488.

3) Münch. med. Woch. 1897. 1344.

4) Zeitschr. physiol. Chem. 26, 1899.

5) Deutsch. med. Woch. 1897. 14.

6) *Ruppel* und *Kitashima* spalteten neuerdings (bei *Behring* Diphtherie in Colers Bibliothek 1901, 92) die Tuberkulinsäure weiter in Tuberkulothyminsäure und das kristallinische Tuberkulosin, das dem Thymin ähnelt und wie alle anderen Präparate giftig ist (§ 304).

der schwefelsauren Lösung durch absoluten Alkohol niedergeschlagen wird, in warmem Wasser löslich ist, durch Barytwasser von der Schwefelsäure geschieden und durch Alkohol als freie Base, die den Protaminen gleicht (*Ruppels Tuberkulosamin*), erhalten werden kann. Neben dieser Nukleinsäure-Protaminverbindung, die durch Essigsäure aus dem Tuberkelbazillenauszug niedergeschlagen wird, ist in diesem Nukleinsäure, die durch salzsäurehaltigen Alkohol gefällt wird, noch in freiem Zustande vorhanden. Aus den ausgelaugten Bazillenkörpern kann man durch sehr verdünnte Alkalien Stoffe ausziehen, die sich wie *Nukleine* verhalten. Der Rest besteht aus Fett (s. u. § 26). Aus den ganzen Bazillen ließen sich diese Substanzen nicht gewinnen, sie gaben vielmehr zunächst an Sodalösung und Wasser in der Kälte und Wärme *pseudomucinähnliche*¹⁾ Stoffe (ca. 15%) und nach dieser Behandlung und gründlichen Entfettung an 5 prozentiges Glycerinwasser erst bei 150° Albumosen in größerer Menge (18—20%) ab. Aus den Lösungen fällt beim Abkühlen eine geringe Menge gänzlich unlöslicher Substanz aus, die merkwürdigerweise sehr giftig ist. Wiederholte Behandlung mit Glycerinwasser entzieht den Bazillen noch 6 bis 8% Albumose. Die übrigbleibenden Bazillenleiber (45%) enthalten noch ziemlich viel Fett und außerdem Stoffe, die sich erst in konzentrierter Salzsäure lösen und die dem Keratin oder Chitin nahe zu stehen scheinen (§ 27).

Die quantitativen Verhältnisse²⁾ ergeben sich aus folgenden Zahlen: In 100 g scharf getrockneter Tuberkelbazillen sind nach *Ruppel* enthalten

8,5 g	Tuberkulinsäure,
24,5 „	Nukleoprotamin,
23,0 „	Nukleoproteid (Nuklein),
26,5 „	Fett und Wachs,
9,2 „	Asche,
8,3 „	Albuminoide, Keratin usw.

Albumosen und Spuren von Peptonen wurden schon von *Kühne*³⁾ neben Albuminaten im *Kochschen Tuberkulin* gefunden, sie entstammten hier freilich zum größeren Teil oder auch ganz dem Nährboden, und jener kleinere Teil wieder brauchte auch in den Bazillenleibern nicht vorgebildet, sondern konnte aus komplizierten Eiweißkörpern durch die eingreifende Behandlung abgespalten sein. Zu etwas abweichenden Ergebnissen führten die Untersuchungen von *de*

1) Vgl. die älteren Angaben von *Th. Weyl* über ein „Toxomucin“ des *bazillus* (*Deutsche med. Woch.* 1891, 256). Über echte Mucine s. u.

2) Vgl. andere Analysen der Tuberkelbazillen bei den Fetten § 26.

3) *Zeitschr. f. Biol.* 30, 1894.

G i a x a ¹⁾. Er erhielt aus den gut entfetteten ganzen Bazillen mit Kalilauge von 0,5—5% und mit Glycerinwasser bei 37° und 100° allmählich eine beträchtliche Menge (22—24% der Trockensubstanz) von Eiweißkörpern, die er wegen ihrer Reaktionen als Nukleoproteide betrachtet. Dieser Extraktionsmethode widerstand der Rest (35—42% der Trockensubstanz), den er wegen seines hohen Phosphorgehalts und der Xanthinprobe Nuklein nannte. Ähnliche Ergebnisse bekam übrigens B a r o n e ²⁾, der nach der Methode de G i a x a s arbeitete, bei avirulenten D i p h t h e r i e b a z i l l e n und einer A k t i n o m y z e s a r t. B e n d i x ³⁾ erhielt ebenso aus Tuberkelbazillen schon durch kurzes Ausziehen mit verdünnter Natronlauge bei 60—70° und Fällung mit Essigsäure ein „Nukleoproteid“, das unlöslich in Wasser, Säuren und Alkohol, leicht löslich in Alkalien, resistent gegen die Pepsinverdauung, stark phosphorhaltig war und außerordentlich starke Pentosenreaktion gab. Die letztere gelang B e n d i x übrigens auch nach Auskochen mit 5 prozentiger Salzsäure, Neutralisierung und nochmaliger Ansäuerung in dem Filtrat bei „Fäkalbakterien“ und D i p h t h e r i e b a z i l l e n, nicht bei T y p h u s b a z i l l e n. L e v e n e ⁴⁾ arbeitete wieder mit zerriebenen Tuberkelbazillen und gewann aus ihnen außer freier Nukleinsäure durch Ausziehen mit 8 prozentigem Ammoniumchlorid drei phosphorhaltige Körper, die sämtlich durch verdünnte Salzsäure und Ammoniumsulfat gefällt, die ferner durch Hitze, und zwar verschiedene Temperaturen, von 50—64°, 72—75° und 94—95° koaguliert wurden und sich außerdem durch ihr Verhalten gegen Kochsalz- und Magnesiumsulfatlösung voneinander trennen ließen. Der Autor betrachtet sie daraufhin als N u k l e o p r o t e i d e. Schließlich sprechen A u c l a i r und P a r i s ⁵⁾ von einem B a z i l l o k a s e i n der Tuberkelbazillen, das sie nach gründlicher Entfettung (§ 26) durch Erhitzung mit konzentrierter Essigsäure bei 80° und Niederschlagen mittels Alkali gewannen.

Das Vorkommen einer Kohlehydratgruppe (Glukosamin?) in verschiedenen phosphorhaltigen Eiweißkörpern der Bakterien wurde schon oben erwähnt. (V a u g h a n, W h e e l e r und L e a c h, C a r a p e l l e). Von M u c i n b i l d u n g durch Bakterien hat man ebenfalls öfter gesprochen, H e i m ⁶⁾ benennt z. B. die Kapselsubstanz der Milzbrandbazillen so, es fehlt aber der Nachweis der Identität, und man

1) Annal. d'igien, sperim. 1900, 191.

2) Baumgartens Jahresber. 1901, 803.

3) Deutsche med. Woch. 1901, 2.

4) Journ. medic. research. 1901, 135, zit. bei L e a c h a. a. O.

5) Compt. rend. ac. sc. 146. 301, 1908 und Arch. méd. expér. 1908.

6) Münch. med. Woch. 1904, 10.

wird wohl auch hier an andere Eiweißkörper, z. B. Pseudomucine denken können¹⁾. Ein Versuch zur Darstellung der Substanz der Milzbrandkapsel hat Preisz gemacht²⁾. Die sulzige Bakterienmasse aus 2—3 wöchentlichen Kulturen in Pferdeserum wurde durch Kalilauge oder Sodalösung gelöst, durch Papier, dann durch Ton filtriert und mit Essigsäure gefällt, gewaschen und im Vakuum getrocknet. Biologisch ist dieser Stoff nach Preisz dadurch wichtig, daß er die Wirkung milzbrandtötender Sera aufhebt (vgl. Aggressine § 319).

In manchen Fällen ist der Bakterien Schleim sicher von Kohlehydraten gebildet. Bei den letzteren (§ 27) und der Schleimgärung (§ 128) wird weiter davon die Rede sein. Ein echtes Mucin soll dagegen nach Charrin und Desprez³⁾ in den Kulturen auf Fleischbouillon (nicht in mineralischen oder Peptonlösungen) des *Bac. pyocyaneus* und vielleicht mancher anderen Bakterien (*Staphylokokk.*, *B. coli*, *Cholera*) sich bilden, während der *Bac. fluorescens*, der dem *Pyocyaneus* nahe verwandt ist, nach Lepierre⁴⁾ auch bei Ernährung mit milch-, malon-, äpfel- und weinsauren Salzen, am besten sogar mit Peptonen Mucin erzeugen soll⁵⁾. Man darf wohl annehmen, daß dieser in den Kulturen gefundene Schleimstoff aus den Bakterienzellen selbst stammt.

Über das Vorkommen von Abbauprodukten oder Vorstufen der Eiweißkörper, insbesondere Albumosen, Peptonen und Aminosäuren in den Leibern der Mikroorganismen findet sich, außer dem wenigen, was oben schon bei den Hefepilzen und Tuberkelbazillen erwähnt wurde, kaum etwas in der Literatur angegeben. Trotzdem und obwohl sie gerade in den genannten Fällen wohl im wesentlichen als Kunstprodukte zu betrachten sind, wird man nicht fehl gehen, wenn man die beständige Anwesenheit von derartigen Stoffen auch in den Zellen selbst für alle Mikroorganismen annimmt. Man hat ihnen bisher nur zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt, und sie sind auch wohl in kleinsten Mengen als solche in den Zellen vorgebildet. Wir werden im weiteren Verlauf der Erörterung bei Besprechung des Stoffwechsels, der Gifte usw. darauf zurückkommen. Bewiesen ist das Vorhandensein nicht unbedeutender Mengen N-haltiger Abkömmlinge der Eiweißkörper bekanntlich für die höheren (eßbaren) Pilze. Bei Schimmelpilzen (*Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*) fand

1) Vgl. Hamm, Zentr. Bakt. 43. 287, 1907.

2) Ebenda 44. 209, 1907.

3) Compt. rend. ac. sc. 126, 596.

4) ibid 761.

5) Vgl. auch Rettger, Journ. of. med research. 1903. Schleimproduktion durch *Bac. subviscosus* Mig.

Marschall¹⁾ außer den Eiweißkörpern noch beträchtliche Mengen wasserlöslicher Extraktivstoffe mit einem N-Gehalt von ca. 6—8%. Es ist zweifelhaft, um was es sich dabei gehandelt hat, wahrscheinlich waren es zum größten Teil nur Kunstprodukte, die bei der Löslichmachung der Eiweißkörper aus deren Zerfall gewonnen wurden. Bei der Analyse von Mikroorganismen ist ferner nicht zu vergessen, daß dieselben bei der Selbstverdauung (§ 166) aus Eiweißstoffen einfache N-haltige liefern können.

Noch fast gar nicht studiert ist bisher die feinere Zusammensetzung der bakteriellen²⁾ Eiweißkörper nach den von E. Fischer angegebenen Methoden. Nur London und Rivkind³⁾ geben an, daß sich die Eiweißstoffe der Tuberkelbazillen, wie es ja schon aus den Analysen Ruppels wahrscheinlich war, den sonst bekannten, mit mittlerem Diaminosäuregehalt nähern. Es wäre wichtig, diese Erfahrungen zu erweitern und namentlich festzustellen, wie sich die Zusammensetzung des Bakterien- und Pilzeiweißes mit der Ernährungsweise ändert, ob z. B. die einseitige Ernährung mit diesen oder jenen Aminosäuren auf sie einen Einfluß hat.

Aber auch davon abgesehen weisen die bisherigen Untersuchungen noch zahlreiche Widersprüche und Lücken auf. Es fehlt vor allem an einer systematischen Vergleichung möglichst verschiedener Mikrobenarten unter Benutzung der einzelnen bisher empfohlenen Methoden. Noch nicht aufgeklärt sind ferner die Beziehungen, in denen das Verhalten der Bakterien gegen die Gramfärbung und die damit nach unserer Darstellung (s. o. § 18) parallel gehende Widerstandsfähigkeit gegen Verdauungsfermente, Alkalien, Serumbakteriolyse usw. einerseits und die Zusammensetzung des Protoplasmas andererseits stehen. Etwas mehr wissen wir über die Beziehungen zwischen Säurefestigkeit der Mykobakterien und ihrem Fettgehalt (§ 26). Daß die Natur der mikrochemisch nachweisbaren Inhaltsbestandteile, z. B. des Meyerschen Volutins uns noch ziemlich unbekannt ist, wurde schon erwähnt (§ 22).

Die chitinartigen N-haltigen Stoffe und N-haltigen Fette (Lezithin) werden weiter unten bei den Kohlehydraten und Fetten (§ 26, 27) besprochen werden, die stickstoffhaltigen oder mindestens von stickstoffhaltigen, meist sogar eiweißähnlichen Beimengungen nicht zu trennenden Enzyme, Gifte, Angriffs- und Impfstoffe, ferner die Pigmente, in besonderen Kapiteln.

1) Arch. Hyg. 28.

2) Über Hefe s. o. Nägeli und Löw, Schröder, Wroblewski.

3) Zeitschr. physiol. Chemie 56, 550.

§ 26. Fette, Cholestearin, Lezithin, Wachs usw. Daß den Mikroorganismen regelmäßig ein gewisser Fettgehalt zukommt, haben wir schon aus Taf. I u. III (S. 53 u. 55) gesehen. Manchmal läßt sich das Fett sogar schon mikroskopisch in Tröpfchenform durch mikrochemische Reaktionen erkennen (§ 22). Über die chemische Beschaffenheit des Fettes geben verschiedene Arbeiten Aufschluß. N ä g e l i und L ö w (Taf. I) fanden in der Hefe ein bei gewöhnlicher Temperatur flüssiges, vollständiges verseifbares Fett, das sie deshalb als zum größten Teil aus Ölsäure bestehend betrachteten. L e z i t h i n, das H o p p e - S e y - l e r¹⁾ festgestellt hatte, konnten sie nicht nachweisen, wohl aber geringe Mengen Cholesterin. H i n s b e r g und R o o s²⁾ fanden vor kurzem im Ätherauszug der Bierhefe neben zwei Cholesterinen und einem ätherischen Öl eine gesättigte Fettsäure von der Formel $C_{15}H_{30}O_2$, eine ungesättigte Säure $C_{12}H_{22}O_2$ und eine Säure von der Zusammensetzung der Ölsäure. Das C e r o l i n, das neuerdings an Stelle der Hefe selbst als Heilmittel gegen Furunkulose gebraucht wird, ist nichts anderes als das Fett der Hefe³⁾. S i e b e r (Taf. I) fand in dem ätherischen Auszug von S c h i m m e l p i l z e n nicht nur „Fett“, sondern auch Farbstoff und in geringer Menge eine kristallinische Substanz, die er nicht näher bestimmen konnte, die aber hauptsächlich von Alkohol aufgenommen wird und auch in Wasser gut löslich ist. Auch machte er das Vorhandensein von Lezithin wahrscheinlich durch Darstellung von Phosphorsäure und eines Platindoppelsalzes aus dem Ätherextrakt. M a r s c h a l l (Taf. I) beschreibt den Ätherextrakt aus Schimmelpilzen als zähflüssig, den Alkoholextrakt als h a r z - artig. Es mag hier daran erinnert werden, daß höhere Pilze oft sehr große Mengen von Harzen teils ausscheiden, teils in den Zellhäuten oder im Zellinhalt ablagern (Z o p f). Auch F e t t f a r b - s t o f f e (Lipochrome) werden von ihnen häufig gebildet, fehlen aber auch den Bakterien nicht (Kap. XV).

Aus Fäulnis b a k t e r i e n stellten schon N e n c k i und S c h a f - f e r (Taf. I) ein Fett dar, das bei gewöhnlicher Temperatur fest war und 72,5% C und 11,7% H enthielt. Sie schließen aus dem etwas niedrigen Kohlenstoffgehalt, daß außer Fett noch andere kohlenstoffärmere Substanzen in geringer Menge beigemischt waren. C r a m e r⁴⁾ fand in dem Ätherextrakt seiner Kapselbazillen ein Fett, das fast weiß war und nicht viel über 40° C schmolz, also auch wohl vorwiegend

1) Zeitschr. physiol. Chem. 2 und 3.

2) Ebenda 38, 1903.

3) H i n s b e r g und R o o s, Münch. med. W. 1903, 28—29.

4) Arch. Hyg. 16.

Olein, und zwar umsomehr, je reicher der Gehalt des Nährbodens an Traubenzucker war. Der viel beträchtlichere Alkoholextrakt stellte eine gelbbraune Masse dar, die sich im Wasser fast gar nicht, in verdünnter Natronlauge und wenig Alkohol leicht löste. Auch das Fett, das *Dzierzowski* und *Rekowski* (Taf. I) aus Diphtheriebazillen auszogen, hatte eine ähnliche Zusammensetzung, es schmolz schon bei 37,5°. Cholesterin fehlte. Auch *Aronson*¹⁾ beschreibt das Fett der Diphtheriebazillen ähnlich. Die Ölsäure selbst neben Palmitin- und Stearinsäure gewann *Nishimura* (Taf. I) aus dem Ätherextrakt seiner Wasserbazillen, außerdem noch beträchtliche Mengen von Lezithin (0,68% der Trockensubstanz), dagegen Cholesterin nur einmal in Spuren. *Stoklasa* (Taf. I) schließt aus den Phosphorgehalt im Äther-Alkoholextrakt des *Azotobacter chroococcum*, daß der größere Teil desselben aus Lezithin bestehe. Daß auch zahlreiche andere Bakterien Lezithin enthalten, ist aus der nach dem Phosphorgehalt geordneten Taf. III (S. 55), die einer Arbeit von *Nicolle* und *Alilaire* entnommen ist, zu ersehen.

Besonders zahlreich sind die Untersuchungen über das Fett der Tuberkelbazillen, das in ihnen, wie wir schon gesehen, sehr reichlich enthalten ist. Der erste Autor, dem diese Tatsache auffiel, *Hamerschlag* (Taf. I), wies auch darauf hin, daß die Fettsäuren des Tuberkelbazillenfettes erst bei höherer Temperatur (63°) schmolzen, also wesentlich aus Palmitin- und Stearinsäure beständen. Auf das Vorhandensein von Lezithin schloß er aus dem Phosphorsäuregehalt des mit Bariumhydroxyd veraschten Fettes. Cholesterin schien zu fehlen. *Klebs*²⁾ hatte etwas andere Resultate; er erhielt durch Ausziehen mit Äther 20,5% der Trockensubstanz als ein festes, rotgefärbtes Fett, das bei 42° schmolz und außerdem durch Benzol 1,14% als eine in Äther unlösliche weiße Masse, die jenseits 50° schmolz. Gleichzeitig wies *Klebs* darauf hin, daß die Säurefestigkeit der gefärbten Tuberkelbazillen auf ihrem Gehalt an Fett beruhe. Das Fett gibt die Reaktion gerade so wie die ganzen Bazillen, und die entfetteten Bazillen geben die Reaktion nicht mehr. Später ist diese Beobachtung wiederholt bestätigt worden, namentlich von *Koch*, *Aronson* und *de Giaksa*³⁾, ohne daß dadurch aber über die Natur der säurefesten Substanz völlige Klarheit geschaffen worden wäre.

*R. Koch*³⁾ fand in den Tuberkelbazillen das Fett in Form ungesättigter Säuren, und zwar ließ sich ein Teil schon in der Kälte durch

1) Arch. Kinderheilk. 30.

2) Vgl. Lit. in § 25, S. 68 ff.

3) Deutsche med. Woch. 1897, 14.

verdünnten Alkohol, der andere erst in der Siedehitze durch absoluten Alkohol oder Äther ausziehen. Beide nehmen die spezifische Bazillenfärbung an. Bei Behandlung mit heißer Natronlauge sieht man, wie das Fett tropfenförmig aus den Bazillen austritt, die dann schließlich nicht mehr die spezifische Färbung geben.

Aronson¹⁾ erhielt aus den Tuberkelbazillen durch Äther-Alkohol 20—25% des Trockengewichts als eine gelbbraune, zähe Masse, im ganzen aus mehreren hundert Litern Kultur 70 g Substanz. Sie bestand zu 17% aus freier Fettsäure, die zum größten Teil in Alkohol löslich war, und sonst aus Wachs, d. h. aus Estern von Fettsäure und höheren, im Wasser unlöslichen Alkoholen, welche letztere durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge abgeschieden wurden, in Äther, Petroläther und Aceton löslich waren und beim Kochen mit Essigsäureanhydrid unter Bildung eines Essigsäureesters sich lösten. Die Reaktion auf Cholesterin versagte. Aronson ist der Meinung, daß die Hauptmenge des Tuberkelwachses nicht in den Leibern der Bazillen selbst, sondern als ein Sekretionsprodukt zwischen ihnen liege. Dieses extrabazillare Wachs werde zunächst bei der Ätherbehandlung entfernt, nur teilweise das intrazelluläre. Daher bleibe vorläufig die Säurefestigkeit bei der Mehrzahl der Bazillen bestehen.²⁾ Ähnlich waren die Befunde von de G i a x a.

Ruppel (§ 25) unterscheidet in den Tuberkelbazillen drei Arten von Fett: Das erste, etwa 8%, löst sich in kaltem Alkohol, ist salbenartig, rot, enthält viel freie Fettsäure und schmilzt bei 55—60°, das zweite wird durch heißen Alkohol den Bazillen entzogen, es ist farblos, wachsartig, schmilzt bei 65° und läßt sich nur sehr schlecht verseifen.³⁾ Der dritte Anteil, der durch Äther ausgezogen

1) Berl. klin. Woch. 1898, 484.

2) Setzt man in geringer Menge Salzsäure zu dem Äther-Alkoholgemisch, so geht die Säurefestigkeit schnell verloren. Aronson erklärt das dadurch, daß die Säure die Hülle der Bazillen durchgängiger mache. Grimme (Zentr. Bakt. 32) findet aber, daß Tuberkel- und Thimotheebazillen nach dreitägigem Aufenthalt in 0,5%iger Salzsäure oder nach einer 10 Min. währenden Einwirkung von Javelle-Lösung vollständig oder größtenteils ihre Säurefestigkeit einbüßen. Der färbbare Stoff könne also kein Fett sein, wenn er sich auch durch Fettextraktionsmittel (namentlich Xylol) entfernen lasse. Zu den Eiweißkörpern, wie Hammerschlag meint, scheine die Substanz ebensowenig zu gehören, da Verdauung mit Trypsin sie nicht zerstöre. Vgl. aber über Säurefestigkeit Bulloch und Macleod, Auclair und Paris weiter unten im Text und Helbing (§ 27) beim Chitin.

3) Levene (Journ. med. research 1904, 251) findet den Schmelzpunkt des durch heißen Alkohol aus den gepulverten Bazillen ausgezogenen und dann mit kochendem Benzol aufgenommenen Fettes bei 55—60°. Auch ihm gelingt die Verseifung nicht.

wird, schmilzt bei 65—70°, ist wachsgartig und gibt auch beim Erwärmen einen dem Bienenwachs ähnlichen Geruch. Im ganzen betrug die Fettmenge 8—26% der Trockensubstanz. Einen guten Teil des Fettes kann man den Bazillen erst entziehen, nachdem sie bei 150° gekocht worden sind.

Die ausführlichste Arbeit über das Fett der Tuberkelbazillen verdanken wir Kresling¹⁾. Aus seinen Versuchen wäre nach ihm „zu ersehen, daß das Fett der Tuberkelbazillen eine ganz-eigenartige Substanz darstellt, welche keinerlei Ähnlichkeit mit irgendeinem anderen Fett oder Wachs aufweist. Es handelt sich hier eher um ein Gemisch, zusammengesetzt aus freien Fettsäuren, Neutralfetten, Fettsäureestern und höheren Alkoholen (Lezithin, Cholesterin) und außerdem einer großen Menge von Extraktivstoffen, welche in Wasser unlöslich, aber in Äther, Alkohol, Chloroform oder Benzol löslich sind, und welche beim Erwärmen zum Teil zerfallen, um in Wasser lösliche Produkte zu bilden. Die Menge solcher Produkte bildet, zusammen mit den wasserlöslichen Fettsäuren, dem Glyzerin (?), dem Cholin und dem ähnlichen, 25,764% des gesamten Fettes.“ Die freien Fettsäuren betragen 14,38%, die Neutralfette und Fettsäureester 77,25%, die aus den letzteren abgeschiedenen Alkohole (mit dem Schmelzpunkt 43,5—44°) 39,10%, das Lezithin 0,16% der durch Chloroform aus den Bazillen gewonnenen Substanz. Die Menge des Cholesterins und die der Fettsäuren überhaupt (mit dem Schmelzpunkt 53,5) wurde nicht bestimmt. Im Mittel von 4 Bestimmungen betrug die Gesamtmenge der Fettsubstanz 38,95% des Trockengewichts der Bakterien.

Ähnlich hohe Fettzahlen wie Kresling erhielten auch noch de Giaxa (a. a. O.), Baudran (s. u.), de Schweinitz und Dorset²⁾, und zwar die letzteren am meisten — 37,4% — bei einem stark abgeschwächten, d. h. lange künstlich kultivierten Stamme von menschlicher Tuberkulose, am wenigsten — 20,6% — bei Bazillen vom Schweine, mittlere Mengen von 26,3 bis 30,8% bei Bazillen vom Rinde, Menschen, Huhn und Pferd. Dieselben Autoren hatten schon früher³⁾ aus den Schmelzpunktbestimmungen geschlossen, daß der Tuberkelbazillus außer etwas flüchtiger Fettsäure Palmitin-, Arachin- und Laurinsäure, der Rotzbazillus Olein- und Palmitinsäure enthalte; ferner hatten sie aus Kulturen der Tuberkelbazillen auf

1) Zentr. Bakt. 30. 24.

2) Zentr. Bakt. 32. 3.

3) Zentr. Bakt. 19. 707 und 22. 209.

Asparagin-Nährlösungen eine kristallinische Säure von der Formel $C_7H_{10}O_4$ dargestellt, die also der Teraconsäure entspricht (vgl. Gifte, § 260).

Nach einer Untersuchung von Bulloch und Macleod¹⁾ sind den Fettsäuren (Olein-, Myristin-, Laurinsäuren) und ihren Fetten Lipochrome (Fettfarbstoffe) und Fettsäureester eines höheren Alkohols beigemengt, dessen Zusammensetzung noch nicht feststeht, der aber dadurch interessant ist, daß er die Säurefestigkeit der Tuberkelbazillen bedingt (s. o.). Der Alkohol wird aus trockenen Tuberkelbazillen, die vorher mit Methylalkohol und alkoholischer Kalilauge ausgekocht sind, durch Ausziehen mit Petroläther erhalten. Die nähere Darstellungsweise muß im Original nachgelesen werden.

Die Analysen Baudrans²⁾ führten zu folgendem Ergebnis: Die Trockensubstanz der Tuberkelbazillen soll enthalten:

	Fettstoffe	36—44%
und zwar	Cholesterin	5—7%
	Stearin	15—18%
	Olein	10—12%
	Lezithin	6—7%
ferner	Cellulose	3,6—5,5%
	Nuklein	3—4%
	Eiweißstoffe	50—56%
	Eisen	0,006—0,008%
	Mangan	Spuren

Auclair und Paris³⁾ weichen von den meisten vorstehenden Forschern dadurch ab, daß sie die Säurefestigkeit der Bazillen auch nach vollständiger Entfernung der Fett- und Eiweißstoffe durch Behandlung mit Alkohol, Äther und Chloroform, sowie Auskochen mit Kali in dem zellulosehaltigen Rest⁴⁾ fortbestehen sehen. Danach wären alle diese Stoffe an der Säurefestigkeit beteiligt.

Einen physiologisch sehr wichtigen Bestandteil, das sogenannte Tuberkulo-Nastin, trennte Deycke⁵⁾ von den übrigen Fettstoffen der Tuberkelbazillen, die er als ein Gemisch von Neutralfetten und hochmolekularen Alkoholen auffaßt. Es soll identisch mit dem früher von ihm und Reschad-Bey⁶⁾ aus einem säure-

1) Journ. of hyg. 1904, 1.

2) Compt. rend. ac. sc. 142. 657, 1906.

3) Ebenda 144. 278, 1907.

4) Vgl. § 27.

5) Lepra. Bibliotheca internationalis 7, 188, 1907.

6) Deutsch. med. Woch. 1907, 3.

festen Strahlenpilz (Aktinom. oder Streptothrix leproides) dargestellten *N a s t i n*, mit dem bei der Behandlung der Lepra große Erfolge erzielt worden sind, und ein Neutralfett vom Schmelzpunkt 48—51° sein. Am wirksamsten ist das Nastin in einer Lösung von Benzoylchlorid, das sich übrigens auch nach der Angabe *D e y c k e s* ganz besonders als Lösungsmittel für alle Fettstoffe der säurefesten Bazillen empfiehlt.

§ 27. Kohlehydrate und Membranstoffe.¹⁾ Von Kohlehydraten, insbesondere Hexosen und Pentosen, als Bestandteilen der Mikroorganismenleiber war schon im § 25 die Rede, doch handelte es sich da nur um solche, die aus Glyko- und Nukleoproteiden, Muzin und Nukleinsäuren entbunden werden können, hier haben wir uns mit den freien Kohlehydraten des Zellkörpers zu beschäftigen. In erster Linie interessiert uns die Frage, ob den Mikroorganismen, wie den eigentlichen Pflanzen echte *C e l l u l o s e* als Membranbestandteil zukommt oder nicht. Die Antwort lautet verschieden je nach dem untersuchten Material und dem untersuchenden Autor. *D e B a r y* ²⁾ hatte schon für die echten *P i l z e* angegeben, daß sie sich ungleich gegenüber den mikrochemischen Cellulosereaktionen verhielten. Die Zellenmembran vieler *A l g e n p i l z e* färbt sich mit Chlorzinkjodlösung violett, mit Jod und verdünnter Schwefelsäure blau und löst sich sowohl in Kupferoxydammoniak als in konzentrierter Schwefelsäure, wäre danach als echte Cellulose anzusprechen. Bei den *M y c o m y c e t e n*, zu denen die meisten Schimmel- und die Hefepilze gehören, erhält man meist die Reaktionen nicht oder nur zeitweise, z. B. bei jungen Membranen. *D e B a r y* schreibt ihnen deshalb eine besondere Modifikation des Zellstoffs, die *P i l z c e l l u l o s e* zu, die sich durch den Mangel der Farbreaktionen und der Löslichkeit in Kupferoxydammoniak auszeichnen soll. *S i e b e r* (Taf. I, S. 52) scheint diese Substanz in Händen gehabt zu haben, ebenso *M a r s c h a l l* (ebenda), beiden Autoren fiel aber auf, daß der größte Teil der stickstofffreien Schimmelpilzsubstanz beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gelöst wurde, also keine echte Cellulose sein konnte (s. u. bei Hemicellulose). *M a r s c h a l l* unterließ es übrigens, die Löslichkeit des Rückstands in Kupferoxydammoniak zu prüfen, und bezeichnete wohl nur deshalb die erhaltene Substanz als echte Cellulose. Für die *H e f e* besitzen wir Untersuchungen von *S c h l o ß b e r g e r*, *L i e b i g*, *N ä g e l i* und *L ö w*, *S a l k o w s k i* ³⁾ u. a. Nach den meisten Forschern läßt sich die

1) Über die Membran der Bakterien vgl. Kap. I, § 2, 5 und 20.

2) *Morph. u. Phys. der Pilze etc.* in Hofmeisters Handb. Leipzig, 1864.

3) *Arch. exp. Path.* 13. 537.

Hefencellulose nicht vollständig vom Stickstoff befreien und geht durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zum größten Teil in Zucker über, während der Rest in Kupferoxydammoniak unlöslich ist. Auch Salkowski findet Unterschiede von der gewöhnlichen Cellulose: die von ihm Membranin benannte Substanz geht durch langdauerndes Kochen mit Wasser schon teilweise in Lösung und läßt sich aus dieser Lösung durch Alkohol als ein dem tierischen Glykogen sehr ähnlicher Körper gewinnen. Später¹⁾ unterscheidet derselbe Autor neben Hefengummi (s. u.) noch lösliche Erythrocellulose, die sich mit Jod braun färbt und mit verdünnten Säuren Dextrose liefert, und unlösliche Achroocellulose, die sich in Jod nicht färbt und mit Säuren Dextrose und Mannose liefert. Die letzten Untersucher, Meigen und Spreng²⁾, kommen zu ähnlichen Ergebnissen. Nach Entfernung des Hefegummi durch Kochen mit 3 prozentiger Kalilauge und Fällen mit Fehlingscher Lösung ließ sich durch Kochen mit 15 prozentiger Kalilauge ein „Dextran“, das sich von Hefegummi durch das spezifische Drehungsvermögen und das Fehlen einer Verbindung mit dem Kupfer der Fehlingschen Lösung unterscheidet, und ein unlöslicher Rückstand, „Mannosodextran“, gewinnen. Beide sind in der Hefe in der Form von Hemicellulose enthalten (s. u.). Echte Cellulose fehlt dagegen, ebenso Chitin. Van Wisselingh³⁾ versuchte vor allem auf mikrochemischem Wege der Aufgabe beizukommen. Nach ihm lassen sich durch Erwärmung in Glyzerin bis auf 300° in kurzer Zeit sehr viel beigemengte Stoffe aus der Zellwand entfernen, während die Cellulose zurückbleibt und durch die bekannten Reaktionen erkannt werden kann. Auf diese Weise fand der Autor echte Cellulose nur bei Myxomyceten, Peronosporaeen und Saprolegniaceen, nicht bei 100 anderen Pilzen aller Ordnungen, z. B. Mucor, Penicillium, Aspergillus, auch weder bei Saccharomyces, noch bei Bac. megatherium, mesentericus, fluorescens putidus, violaceus usw. Es ergab sich dabei, daß die Wände der Bakterien und Hefe die Erwärmung in Glyzerin nicht aushalten, die der Bakterien auch nicht die Erwärmung in konzentrierter Kalilauge (§ 13), die nach Hoppe-Seyler und Lange bei 180° die Cellulose unberührt läßt (s. u. beim Chitin). Allerdings entspricht dies Resultat, was die Bakterien anlangt, nicht ganz den Feststellungen der übrigen Untersucher, so vermißten zwar Vandeveld und Vincenzi (Taf. I, S. 52) bei Heubazillen, Nishimura⁴⁾ bei Wasserbazillen

1) Ber. chem. Ges. 27. 3325.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 55, 1908.

3) Jahrb. wiss. Bot. 31.

4) Arch. Hyg. 18 und 21.

und Tuberkelbazillen die Cellulose, aber H a m m e r s c h l a g (Taf. I) fand sie in beträchtlicher Menge in Tuberkelbazillen, D r e y f u s ¹⁾ wenigstens Spuren davon in Eiter- und Heubazillen. D z i e r z - g o w s k i und R e k o w s k i (Taf. I) bestimmten sogar 28% Cellulose in den Diphtheriebazillen. Alle Reaktionen der Cellulose erhielten ferner N ä g e l i und L ö w ²⁾ mit dem Schleim der Essigmutter und B r o w n ³⁾ mit dem wohl identischen des Bact. xylinum. D a n a c h darf an der Fähigkeit einzelner Bakterien, Cellulose zu bilden, nicht gut gezweifelt werden. Interessant ist die Beobachtung H a l l i b u r t o n s ⁴⁾, daß auch die Kolonien des Infusoriums Ophrydium versatile eine Hülle besitzen, die aus Cellulose besteht.

In einer Anzahl von Fällen, die teilweise schon erwähnt worden sind (N i s h i m u r a, A r o n s o n), löste sich allerdings die celluloseartige Substanz beim Kochen in verdünnter Säure und gab dabei reduzierenden Zucker, entsprach also der sogenannten H e m i c e l l u - l o s e E. S c h u l z e s ⁵⁾. N i s h i m u r a stellte das z. B. für seinen Wasserbazillus, ferner für den Bac. prodigiosus, den Staphylococcus pyogenus citreus und die Tuberkelbazillen fest. Der Autor hält es aber für möglich, daß der Cellulosegehalt tuberkulöser Organe, auf den zuerst E. F r e u n d ⁶⁾ hingewiesen hat, auf einer Umwandlung der in den Tuberkelbazillen enthaltenen Hemicellulose in echte Cellulose beruhe. Die Ergebnisse von M e i g e n und S p r e n g über die Hemicellulose der Hefe wurden schon erwähnt. Unseres Erachtens ist aus den widerstreitenden Ergebnissen der verschiedenen Forscher vielleicht zu schließen, daß Übergänge dieser Substanzen ineinander häufiger vorkommen.

Dasselbe gilt auch von den S c h l e i m s t o f f e n und G u m m i - a r t e n, die mehrfach aus den Mikrobenkörpern dargestellt worden sind. Der H e f e s c h l e i m wurde zuerst von N ä g e l i und L ö w genau untersucht. Er läßt sich durch wiederholtes langdauerndes Auskochen der Hefepilze mit Wasser erhalten, durch Fällern mit Bleiessig von Peptonen befreien und mit heißem Alkohol fällen. Er reduziert F e h l i n g s c h e Lösung nicht, zum Unterschied von Dextrin, und

1) Zeitschr. physiol. Chem. 18.

2) Journ. pr. Chem. 17.

3) Ref. Ber. chem. Ges. 20. 580.

4) Quarterly Journ. microsc. sc. July 1885.

5) Zeitschr. physiol. Chem. 14 und 16.

6) Jahrb. der Gesellsch. Wiener Ärzte 28. Über die Zunahme der „Rohfaser“ im Baumwollensaatmehl durch Wucherung der Heubazillen vgl. K ö n i g, S p i e c k e r m a n n und O l i g § 130.

wird durch Säuren nur langsam verzuckert. Mit Gerbsäure gibt er keinen Niederschlag, ebenso wenig mit Borax oder Bleiessig (zum Unterschied von gelöster Stärke, Arabin und Dextrin). Er ist schwach rechtsdrehend, wird mit Jod braun gefärbt und durch Salpetersäure nicht zu Schleimsäure, sondern zu Zucker- und Oxalsäure oxydiert. Die Formel $C_{18}H_{34}O_{17}$ entspricht der Analyse am besten. W e g n e r ¹⁾ erhielt freilich durch Kochen mit Kalkmilch aus Hefe einen Gummi, der stark rechts drehte und anscheinend mit S c h e i b l e r s Dextran identisch war; nach H e s s e n l a n d ²⁾ wäre er aber vom Dextran nicht nur durch die etwas abweichende Drehung, sondern auch dadurch verschieden, daß er bei der Hydrolyse Mannose, das Dextran Dextrose ergäbe. Der Hefegummi hätte ferner die Zusammensetzung $C_{12}H_{22}O_{11}$, das Dextran $C_6H_{10}O_5$. Nach M e i g e n und S p r e n g (s. o.) sind die Präparate von H e s s e n l a n d und N ä g e l i und L ö w Gemische, aus denen durch Fällen mit F e h l i n g s c h e r Lösung die Gummikupferverbindung und durch Zersetzung in Salzsäure, nochmaliges Fällen mit Alkohol der Hefegummi rein zu gewinnen ist. Ebenso läßt er sich durch das S a l k o w s k i s c h e Verfahren, nämlich durch kurzes Auskochen mit 3 prozentiger Kalilauge und Fällung mit F e h l i n g s c h e r Lösung erhalten. Er ist in der Tat nach der Formel H e s s e n l a n d s zusammengesetzt, hat das spezifische Drehungsvermögen $89,6^\circ$ und ist ein Dextromannan, in dem doppelt so viel Mannan wie Dextran enthalten ist. Dextran hatte schon vorher S c h e i b l e r ³⁾ als Hauptbestandteil der Gallerte des *Leuconostoc. mesenterioides* nachgewiesen. Wir werden auf diese und andere Schleimstoffe, die mehr als Sekrete, denn als Bestandteile der Zellen anzusehen sind, bei den Schleimgärungen (§ 128 u. 129) zurückkommen.

S t ä r k e ist bisher bei den echten Pilzen nicht gefunden, wohl aber durch die Jodreaktion bei nicht wenigen Bakterien nachgewiesen worden, so beim *Jodococcus vaginatus* und anderen Mundbakterien (M i l l e r ⁴⁾), bei vielen Essigbakterien ⁵⁾ (*Bact. pasteurianum* und *kützingianum* Hansen), dem *Vibrio Rugula*, beim *Clostridium butyricum* Prazmowski, *Granulobacter Beijerinck* und *Amylobacter* van Tieghem, aber auch gelegentlich bei allen anderen Anaërobiern ⁶⁾, bei

1) Kochs Jahresber. 90. 33.

2) ibid. 92. 67. Vgl. auch S a l k o w s k i, Ber. chem. Gesellsch. 27, 497 und 925.

3) Zeitschr. verein. Rübenzuckerindustrie 1874.

4) Mikroorganismen der Mundhöhle 1892.

5) Vgl. B e i j e r i n c k. Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 209, 1898, H e n n e b e r g und H o y e r ebenda 4. 14 und 867, H a n s e n, Kochs Jahresber. 1900, 299, A. M e y e r, Ber. bot. Gesellsch. 1901, 428.

6) Vgl. § 130.

denen sein Auftreten augenscheinlich mit der Bildung von Bläh- oder Clostridienformen zusammenhängt (von H i b l e r, G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h). Aber auch nicht sporenbildende Aërobier, wie z. B. *bac. coli* geben manchmal die Reaktion¹⁾. B e i j e r i n c k²⁾ konnte aus seinem *Granulobacter butyricum* durch längeres Kochen mit Wasser Stärke ausziehen, allerdings nur so wenig, daß sich das Wasser gerade mit Jod bläute. Bei sehr langem Kochen mit Säuren verschwindet die Granulose, und man findet Dextrin und Zucker in der Lösung. Viel leichter geschieht diese Umwandlung durch diastatisches Ferment. Es kann also, auch von der Jodreaktion abgesehen, kaum einem Zweifel unterliegen, daß wir es hier mit einem reduzierenden Kohlehydrat, wahrscheinlich mit Stärke, zu tun haben. A r t h u r M e y e r³⁾ hat darauf aufmerksam gemacht, daß manche Bakterien sich mit sehr wenig Jod blau, mit mehr rotbraun färben, und schließt daraus auf einen geringen Gehalt an Stärke und einen hohen Gehalt an Glykogen oder Amylodextrin. Rote Färbungen sind auch schon früher und später neben oder statt der blauen vielfach beobachtet worden. Auf die Bildung dieser Stärke und stärkeähnlichen Stoffe kommen wir später noch zurück (§ 130). Meist handelt sich um ausschließlich intrazelluläre Erzeugnisse, indessen bei den Essigbakterien bekommt man die Jodreaktion, und zwar sogar vorwiegend, ähnlich wie die Zellulosereaktion bei dem verwandten *Bact. xylinum* (s. o. S. 80) — in dem die Bakterien zusammenhaltenden und die Decke auf der Flüssigkeit bildenden Schleim.

G l y k o g e n wurde in Pilzfäden zuerst gesehen von d e B a r y als stark lichtbrechende Substanz, die durch Jodjodkalium schön rotbraun gefärbt wurde. E r r e r a⁴⁾ stellte diesen Stoff aber erst dem tierischen Glykogen gleich und gewann ihn in größerer Menge aus einigen höheren Pilzen. L a u r e n t⁵⁾ bestimmte, allerdings nicht auf ganz einwandfreie Weise, den Glykogengehalt der Hefe und fand bis zu 20% des Trockengewichts. C l a u t r i a n⁶⁾ erhielt eine Glykogenlösung aus Hefe dadurch, daß er die Zellen mit Quarz zu Pulver zerrieb, mit schwach alkalischem Wasser auskochte und die schleimige Lösung

1) Vgl. G r a ß b e r g e r, P a s s i n i, Arch. Hyg. 48. 42.

2) Verh. Koninkl. Akad. Wetensch. Amsterdam 1893.

3) Flora 1899.

4) L'épithème des Ascomycètes et le glycogène des végétaux. Thèse. Bruxelles 1882 und verschiedene Arbeiten in den Compt. rend. 101, Bot. Zeitg. 1886 usw.

5) Kochs Jahresber. 1890, 57.

6) Acad. Roy. Belg. 3. III. 1895 mit ausführl. Ref. in Kochs Jahresber. 1895, 34.

von den darin enthaltenen gummiartigen Körpern befreite, indem er mit Chlorkalium und Natriumphosphat einen Niederschlag von Kalziumphosphat erzeugte. Das aus der Lösung dargestellte gereinigte Glykogen hat wie das tierische die Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$, enthält aber mehr Asche, gibt in wässriger Lösung eine viel geringere Opaleszenz, färbt sich mit Jod violettrot, nicht braurot, entfärbt sich erst bei 72—73°, während die entsprechende Temperatur bei dem Leberglykogen des Kaninchens zwischen 58 und 60° liegt, und zeigt schließlich eine etwas geringere Drehung des polarisierten Lichtes. Das Vorhandensein des Glykogens ist durch die Jodreaktion in zahlreichen Mikroorganismen nachgewiesen worden, so in Schimmelpilzen (besonders Mucor), Hyphomyceten (z. B. den Hautschmarotzern, wie Favus, vom Verfasser), allen Sproßpilzen (Verfasser), vielen Bakterien (Arthur Meyer, Heinze¹), Verfasser), in großer Menge auch in den merkwürdigen stickstofffixierenden Azotobakterien. Ob es sich freilich bei der mikrochemischen Reaktion stets um dieselbe Substanz handelt, muß fraglich bleiben. Auch Dextrine geben ja eine ähnliche Färbung (s. o.). Die Menge des Glykogens in den Zellen wechselt sehr erheblich. In jungen, noch sprossenden Hefezellen bekommt man auf die gewöhnliche Weise keine Glykogenreaktion, aber sofort, wenn man die Zellen vorher durch Erhitzen abtötet oder eine konzentrierte Jodlösung anwendet²). Der Glykogengehalt der Hefe ist am höchsten am Schlusse der Hauptgärung. Dann nimmt er wieder ab, aber auch in hungernder Hefe finden sich noch einige Zellen, die starke Reaktion geben. In erster Linie scheinen das die Dauerzellen zu sein.

Zuckerarten kommen wahrscheinlich im Zellkörper der Mikroorganismen in freiem Zustande vor. Sind sie doch auch bei den höheren Pilzen, teilweise sogar in bedeutender Menge, nachgewiesen worden (Zopf). Für die Mikroorganismen liegen nur wenige Bestimmungen vor. Laurent (a. a. O.) will in der Hefe bis zu 12% Traubenzucker gefunden haben. Bruhat fand in einer Bierhefenkonserve (Levuretin) 0,7% Zucker neben 11,1% Glykogen. Dasselbe gilt übrigens vom Mannit.

Gilson³) und Winterstein⁴) wiesen zuerst in höheren Pilzen an Stelle der Zellulose das stickstoffhaltige Chitin nach, $C_{16}H_{20}N_2O_{12}$, das bis dahin nur in tierischen Membranen gefunden worden war. Es färbt sich mit Jod braun, manchmal nach Zufügung

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12 und 14, 1903—1904.

2) Meissner, Zentr. Bakt. 2. Abt., 6. 517, 1900. vgl. auch Heinze a. a. O.

3) La Cellule 11, 1895.

4) Ber. bot. Gesellsch. 95, 65.

von Chlorzinklösung auch violett, ist unlöslich in den meisten Lösungsmitteln, liefert mit konzentrierter Kalilauge bei 180° einen Rückstand von Mykosin und nach Behandlung mit erwärmter konzentrierter Salzsäure Kristalle von salzsaurem Glukosamin.

Mykosin, von **Hoppe-Seyler** Chitosan genannt, gibt mit Jod und Schwefelsäure oder mit Chlorzinkjodlösung eine rötlich-violette Färbung, aber zum Unterschied von Zellulose nur, wenn man die Reagentien mit Wasser verdünnt, enthält übrigens noch den Stickstoff des Chitins ($C_{14}H_{26}N_2O_{10}$), löst sich ferner schon bei gewöhnlicher Temperatur in sehr verdünnter Salzsäure und Essigsäure, nicht in diesen Säuren, wenn sie konzentriert sind. In verdünnter Schwefelsäure ist es bei Erwärmung löslich. Das salzsaure Glukosamin (oder Chitosamin $C_6H_{13}NO_5$) färbt sich nach Zusatz von Alkalien erst grün, dann braunrot, endlich tiefbraun bis schwarz, es reduziert in alkalischer Lösung Kupferoxyd und Wismutoxyd wie Glykose. Nach der gründlichen Arbeit von **Wisselinghs** (a. a. O.), deren Angaben **Garbowski**¹⁾ bei einer teilweisen Nachprüfung bestätigte, kommt Chitin vor bei den **Mukorineen**, einigen **Chytridiaceen** (z. B. den Sporen von **Plasmodiophora Brassicae** und bei **Synchytrium Taraxaci**), ferner bei **Empusa Muscae** (Entomophthoreen), vielen **Ascomyceten** (**Erysiphe**, **Aspergillus**, **Penicillium**, **Pyrenomyceten** und **Discomyceten**), den **Ustilagineen**, **Uredineen** und **Basidiomyceten**; Chitin fehlt dagegen bei **Bakterien**, **Sacharomyceten**, **Peronosporéen** und **Saprolegniaceen**. Man kann also im allgemeinen sagen, daß diejenigen Pilze, die Zellulose bilden, kein Chitin führen und umgekehrt; nur Bakterien und Sacheromyceten sollen nach von **Wisselingh** weder den einen noch den anderen Stoff erzeugen, man fragt sich aber da, welcher Art die entschieden sehr resistente Zellmembran bei diesen Organismen sein könnte. Nach den oben gemachten Ausführungen ist die Regel von **Wisselinghs** jedenfalls nicht ohne Ausnahme, es kommt bei Bakterien echte Zellulose vor. Für das Vorhandensein einer chitinartigen Hüllsubstanz sprechen ebenfalls manche der vorhandenen Analysen. So fand **Emmerling**²⁾ nicht reine Zellulose, sondern Chitin bei **Bact. xylinum**. **Ruppel** (S. 69) läßt bei den Tuberkelbazillen unbestimmt, ob sie Keratin, Chitin oder Fibroin enthalten, **Helbing**³⁾ führt aber die „Säurefestigkeit“ dieser Bazillen geradezu auf ihren Chitingehalt zurück. Körper, die dem Chitin zum mindesten

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 20. 109, 1908. Auch die Bakteriensporen geben keine Chitinreaktion.

2) Ber. chem. Ges. 1899, 541.

3) Deutsch. med. Wochenschr. 1900, 23. Vereinsbeilage S. 132.

sehr nahe stehen, erhielt J w a n o f f aus denselben Bakterien, aus denen er, wie wir S. 67 gesehen haben, die Nukleoproteide der Zellkörper darstellte, indem er den Kupferoxydhydrat enthaltenden Niederschlag mit Wasser auswusch, dann mit verdünnter Säure behandelte und die unlöslichen Membranteile mit Wasser, Alkohol und Äther reinigte. Sie erwiesen sich in Kupferoxydammoniak unlöslich, lösten sich aber allmählich in konzentrierter Schwefelsäure, nicht vollständig in kalter konzentrierter Salzsäure. Aus dieser Lösung fiel durch Neutralisierung mit Alkalien oder nach reichlichem Wasserzusatz ein weißflockiger Niederschlag aus, der sich mit verdünnter Schwefelsäure und Jod rotviolett, mit Chlorzinkjodlösung braun färbte und nach Kochen mit verdünnter Mineralsäure reduzierende Körper abspaltete. Die Analyse ergab für die Membran des *Pyocyaneus*, *Megatherium* und *B. anthracis* 46% C, 6,7—7,0% H, 8,4—8,8% N, also eine ähnliche Zusammensetzung wie die des Chitins.

Neben der Zellulose finden sich in den Membranen der höheren Pflanzen auch noch Pektinstoffe und Kallose, nach M a n g i n, der sich um ihren Nachweis große Verdienste erworben hat¹⁾, fehlen diese Stoffe auch den Pilzen nicht, und zwar sollen die *Peronosporaceen* und *Saprolegniaceen* Zellulose und Kallose, die *Mukorineen* Zellulose und Pektinstoffe, die *Ascomyceten* reine Kallose führen. Von W i s s e l i n g schlägt allerdings den Wert der von M a n g i n hauptsächlich benutzten Farbreaktionen für die Erkennung dieser Stoffe, z. B. mit Rutheniumrot, Methylenblau und Brillantblau nicht hoch an, da das von M a n g i n noch nicht gekannte Chitin ähnliche Reaktionen gebe.

Wenn die vorgetragenen Untersuchungen für die Membran der Bakterien nur ausnahmsweise einen bestimmten chemischen Bestandteil nachweisen konnten, so ist auch das in Kap. I beschriebene mikroskopische Verhalten der Bakterien gegen Lösungsmittel, namentlich gegen Verdauungs- und Selbstverdauungsenzyme, Alkalien und Lipotide, so ungleichmäßig, daß wir daraus allgemeine Schlüsse über die Zusammensetzung der Bakterienmembran nicht ziehen können.

§ 28. Aschenbestandteile. Genaue Aschenanalysen der Schimmelpilze scheinen nicht vorzuliegen²⁾, um so mehr solche von Hefepilzen. Einer Zusammenstellung von A d. M a y e r ³⁾ entnehme ich die folgenden Werte.

1) Compt. rend. Acad. sc. 117, 816. Journ. de botan. 1893. Vergl. S t r a s b u r g e r, Botan. Practicum 1902.

2) Z o p f (Pilze, S. 118) gibt als Mittel einer Analyse von höheren Pilzen 40% Phosphorsäure, 45% Kali, 1,4% Natron, 2% Magnesia, 1,5% Kalk, 1% Kieselsäure, 1% Eisenoxyd, 8% Schwefelsäure und 1% Chlor.

3) Gärungschemie, 5. Aufl., S. 118, 1902.

Es bilden	Phosphorsäure	51—59%	der Hefenasche
	Kali	28—40	„ „
	Natron	0,5—1,9	„ „
	Magnesia	4,0—8,1	„ „
	Kalk	1,0—4,5	„ „
	Kieselsäure	0—1,6	„ „
	Eisenoxyd	0,1—7,3	„ „
	Schwefelsäure	0,6—6	„ „
	Chlor	0,03—1	„ „

Phosphorsäure und Kali sind also in bedeutendem Übergewicht, Magnesia überwiegt den Kalk; Natron, Schwefelsäure¹⁾ und Chlor können sehr spärlich vorhanden sein, erst recht natürlich Eisenoxyd und Kieselsäure. Die Schwankungen sind zum Teil sehr bedeutend. Zum Vergleich diene eine Analyse der Asche der der Hefe sehr nahestehenden Soorhefe nach K a p p e s ²⁾ (Taf. I, S. 52).

Es bilden	Phosphorsäure	57%	der Soorhefenasche
	Kali	9	„ „
	Natron	19	„ „
	Magnesia	7	„ „
	Kalk	14	„ „
	Kieselsäure	2	„ „
	Chlor	0,3	„ „

Das Bild ist im allgemeinen ein ähnliches, nur tritt Kali vor Natron, Magnesia vor Kalk in den Hintergrund. Sehr wahrscheinlich sind Verschiedenheiten des Nährbodens wenigstens zum Teil dafür verantwortlich zu machen. Die Hefe war auf vegetabilischem, die Soorhefe auf animalischen Nährboden gezüchtet worden.

Für Bakterien liegen Aschenanalysen vor von K a p p e s (a. a. O.) und C r a m e r ³⁾, de S c h w e i n i t z und D o r s e t ⁴⁾ für Bac. prodigiosus, xerosis, Spirill. cholerae und Bac. tuberculosis. Die Zahlen lauten abgekürzt in Prozenten der Asche berechnet:

	Xerose- bazillus	Prodigiosus	Tuberkel- bazillus	Cholera- spirillum
Phosphorsäure	34%	36%	55,2%	10—45%

1) Bei der Schwefelsäure liegt das wahrscheinlich an der analytischen Methode.

2) S. Anm. zu Taf. I, S. 52.

3) Arch. Hyg. 28.

4) Zentr. Bakt. 23, 993.

	Xerose- bazillus	Prodigiosus	Tuberkel- bazillus	Cholera- spirillum
Kali	11%	11%	6,4%	4—6 %
Natron	24 „	28 „	13,6 „	27—34 „
Magnesia	6 „	7 „	11,6 „	0,1—0,6 „
Kalk	3 „	4 „	12,6 „	0,3—1,3 „
Kieselsäure	0,5 „	0,5 „	0,6 „	— „
Schwefelsäure	— „	— „	0	1—8 „
Chlor	0,6 „	5 „	0	5—44 „

Der Xerosebazillus und Prodigiosus waren von K a p p e s auf Fleisch-extrakt-Pepton-Agar mit 0,5% Kochsalzlösung gezüchtet worden, ihre Trockensubstanz wurde zu 15% des Gewichts des feuchten Bakterienleibes bestimmt, ihr Aschegehalt betrug 9,5 und 13,5% der Trockensubstanz. Wie man sieht, stimmt die Zusammensetzung ihrer Asche in bemerkenswerter Weise überein bis auf den Chlorgehalt, der allerdings recht verschieden ist¹⁾. Auch die Abweichungen gegenüber der Soorhefe, die von demselben Autor auf dem gleichen Nährboden gezüchtet wurde (s. o.), sind nicht erheblich, nur hat die Phosphorsäure in der Bakterienasche nicht das bedeutende Übergewicht wie in der Hefenasche. Beim Tuberkelbazillus ist das aber doch der Fall und nach S t o k l a s a (Taf. I) noch mehr beim Azotobacter chroococcum. Letzterer wurde allerdings fast ausschließlich mit Kaliumphosphat als Mineralstoff genährt.

Sehr stark weicht die Asche des Cholerabazillus von der der anderen drei Bakterien ab, zeigt aber auch in ihrer eigenen Zusammensetzung große Schwankungen. Beide Tatsachen lassen sich zum Teil aus der Verschiedenheit des Nährbodens erklären. C r a m e r züchtete die Cholerabazillen nebeneinander auf gewöhnlicher Sodaapeptonbouillon (1% Soda), auf derselben Bouillon mit Zusatz von 4% phosphorsaurem Natron und auf Bouillon mit 3% Chlornatrium. Da ist von vornherein zu erwarten, daß einerseits Magnesia und Kalk in den Choleraspirillen fast vollständig fehlen werden, weil die stark alkalische Bouillon diese Stoffe nur noch in geringer Menge enthält und daß andererseits die Schwankungen in der Zusammensetzung wesentlich die Phosphorsäure und den Chlorgehalt betreffen, wie ja auch die Analyse erweist. Ein Vergleich des Aschegehaltes im Nährboden und in den Bakterien ergibt folgendes:

1) In der Asche der Tuberkelbazillen fanden P r o s k a u e r und Beck (Zeitschr. Hyg. 18, 139 Anm.) nur Spuren von Chloriden.

	Soda- Bouillon	Phosphat- bouillon	Kochsalz- bouillon
Aschegehalt der Bakterien in der Trockensubstanz	9,3 %	22,3 %	25,9 %
Aschegehalt in der feuchten Masse	1,34 „	2,75 „	3,73 „
Aschegehalt des Nährbodens in der feuchten Masse	1,25 „	2,50 „	4,12 „

Die Übereinstimmung in dem Gehalt der feuchten Masse, des Nährbodens und der Bakterien an Asche ist also eine fast vollkommene. Betrachten wir weiter den Gehalt an einzelnen Bestandteilen, so finden wir in denselben drei Bouillonarten, den

Phosphorsäuregehalt in der Bakterienasche	28,7%	38,4 %	10,9%
Phosphorsäuregehalt in der Nährbodenasche	7,9 „	39,8 „	2,1 „
Chlorgehalt in der Bakterienasche	16,9 „	7,97 „	40,7 „
Chlorgehalt in der Nährbodenasche	23,0 „	11,4 „	49,2 „

Hier ist von Übereinstimmung keine Rede mehr. Die Phosphorsäuremenge schwankt im Nährboden um das 5—20 fache, in den Bakterien knapp bis zum 3 fachen. Etwas größer ist der Parallelismus im Chlorgehalt. Offenbar verhalten sich also die Bakterien den einzelnen Mineralbestandteilen des Nährmaterials gegenüber sehr verschieden. Wir werden im § 58 darauf zurückkommen.

§ 28 a. Andere Bestandteile. Hierher gehören diejenigen Stoffe, die entweder nur in geringer Menge oder nur bei einzelnen Spezies von Mikroorganismen in größerer Menge vorkommen, so z. B. der Schwefel im Körper der sogenannten Schwefelbakterien (§ 208 u. 209), das Eisenoxyd und Manganoxyd in den Scheiden der Eisenbakterien (§ 216), die Farbstoffe in den Pigmentbakterien (Kap. XV), giftige Substanzen von verschiedener Zusammensetzung Angriffs-, Reiz- und Impfstoffe in den Krankheitserregern (Kap. XVI u. XVII), Stoffwechselerzeugnisse (Kap. VI ff.) und Fermente in allen Mikroorganismen (Kap. XIV) usw. Wir behandeln sie, schon um uns nicht wiederholen zu müssen, in besonderen Abschnitten, die sich mit den Bedingungen ihres Vorkommens und der Art ihrer Entstehung beschäftigen.

Kapitel III.

Die Nährstoffe der Kleinwesen.

§ 29. **Einleitung. Methoden.** Unsere nächste Aufgabe besteht darin, zu erforschen, durch welche Nährstoffe das Leben der Mikroorganismen zu erhalten und ein Wachstum zu erzielen ist. Dieses Problem ist oft weniger schwierig zu lösen, als das im vorigen Abschnitt behandelte, weil wir es in der Hand haben, die Zusammensetzung der Nährböden durch Mischung der verschiedensten reinen Stoffe nach streng chemischen Gesichtspunkten zu regeln. Solche künstlichen Nährlösungen hat wohl zuerst *Pasteur*¹⁾ angewandt in der ausgesprochenen Absicht, nach dem Vorgange der Pflanzenphysiologie und Agrarkulturchemie die Bedingungen für das Wachstum der niederen Organismen (Schimmelpilze, Hefen und Bakterien) festzustellen. *Pasteur* benutzte eine Lösung aus destilliertem Wasser, Hefeasche und weinsaurem Ammoniak mit oder ohne Zucker. Er fand, daß die Mikroorganismen nicht zum Wachsen kamen, wenn er einen der genannten Bestandteile wegließ. Nebenbei machte er die interessante Beobachtung, daß von Bakterien und Schimmelpilzen nur der eine Bestandteil der Traubensäure, die rechtsdrehende Weinsäure, als Nährstoff ausgenutzt wurde, die linksdrehende aber zurückblieb. Weitere ausführliche Versuche wurden später von zahlreichen Forschern angestellt. Die Methodik war dabei eine verschiedene. *Raulin*²⁾ stellte sich zunächst eine Lösung zusammen, die für das Wachstum eines Schimmelpilzes, des *Aspergillus niger*, besonders gut geeignet war; sie enthielt³⁾ z. B. auf 1500 ccm Wasser 70 g Rohrzucker, 4 g Weinsäure, 4 g Ammoniumnitrat, 0,6 g Ammoniumphosphat, 0,6 g Kaliumkarbonat, 0,4 g Magnesiumkarbonat, 0,25 g Ammoniumsulfat und je 0,07 g Zink-

1) Compt. rend. ac. sc. 48 und Ann. chim. et phys. 58 und 64.

2) Ann. sc. natur. botanique 1869.

3) In den einzelnen Versuchen wurden kleine Abänderungen vorgenommen, die ohne erheblichen Einfluß auf die Ernte waren. So konnte Ammonnitrat durch Kaliumnitrat oder Ammontartrat und die Ammonsalze der Phosphor- und Schwefelsäure durch die Kaliumsalze ersetzt werden.

sulfat, Eisensulfat und Kaliumsilikat. Die Flüssigkeit wurde in 2—3 cm hoher Schicht in größere Schalen gebracht, mit Pilzsporen besät und 3 Tage bei 35° stehen gelassen. Das reichlich entwickelte Mycel wurde dann abgenommen und von der Flüssigkeit nach weiteren 3 Tagen ein neuer Kulturrasen gewonnen, nach dessen Entfernung sich die Nährkraft der Flüssigkeit so gut wie erschöpft zeigte. Das Trockengewicht der beiden Ernten betrug zusammen ca. 25 g. Mit diesem günstigsten Resultat wurden diejenigen Erntegewichte verglichen, die sich erzielen ließen, wenn der eine oder andere Bestandteil der Normallösung fortgelassen wurde. Raulin fand in verschiedenen Versuchen die Ernte herabgedrückt auf

1/65	beim Fehlen des Zuckers,
1/24—1/153	„ „ des Stickstoffs,
1/24—1/182	„ „ der Phosphorsäure,
1/11,6—1/91	„ „ der Magnesia,
1/13—1/25	„ „ des Kalis,
1/2—1/15,4	„ „ der Schwefelsäure,
1/2—1/10	„ „ des Zinkoxyds,
1/1,4—1/2,7	„ „ des Eisenoxyds,
1/1,2—1/1,4	„ „ der Kieselsäure.

Die verhältnismäßige Wichtigkeit der einzelnen Bestandteile erhellt trotz der beträchtlichen Schwankungen der Ergebnisse ohne weiteres aus diesen Zahlen. Es ist aber leicht einzusehen, daß das Gewicht der Ernte allein noch nicht genügt, um ihre wirkliche Bedeutung zu beurteilen, weil ja bei gleichem Gewicht die Beschaffenheit der gebildeten Zellen eine verschiedene, diese gesund und jene krank sein können. Um darüber völlige Klarheit zu gewinnen, wäre es nötig gewesen, die einzelnen Ernten in ihrem mikroskopischen und chemischen Aufbau zu vergleichen und nicht nur eine, sondern mehrere Generationen hintereinander auf den modifizierten Nährböden zu züchten. Ein anderer Einwand gegenüber den Raulin'schen Zahlen läßt sich ferner nicht abweisen: man hat wohl, trotz der von Raulin angewandten Sorgfalt ein Recht, zu bezweifeln, daß seine Chemikalien völlig rein gewesen sind, daß also z. B. mit der Entziehung des Kalis, der Schwefelsäure, des Eisenoxyds wirklich jede Spur dieser Stoffe aus dem Nährboden beseitigt war. Ebenso ist an die Abgabe kleinster Stoffmengen aus dem Glase, an die Absorption aus der Luft zu denken. Vielleicht erklärt sich so die Veränderlichkeit der Resultate. Trotz dieser Ausstellungen bleiben die Versuche Raulin's sehr lehrreich und die Grundlage unserer Kenntnisse namentlich über die mineralischen

Nährstoffe der Pilze. Wir werden auf sie noch mehrfach zurückzukommen haben.

Ein anderer naheliegender Weg wurde vielfach eingeschlagen, um die Nährfähigkeit der einzelnen N-haltigen und N-freien Kohlenstoffverbindungen und Metallsalze festzustellen. Man ersetzt z. B. in einer künstlichen Nährlösung, die sich bewährt hat, die stickstoffliefernde Substanz durch andere Stickstoffverbindungen, ein Metall durch ein anderes und vergleicht wieder die Ernten miteinander. Die Aussaaten werden am besten mit bestimmten reinkultivierten Mikroorganismen gemacht. In anderen Fällen, wo es sich darum handelt, festzustellen, ob eine bestimmte Lösung, die sich für die geprüften Mikroorganismen als ungeeignet erwiesen hat, nicht doch imstande ist, anderen Lebewesen zur Nahrung zu dienen, überläßt man die Einsaat dem Zufall bzw. der stets keimhaltigen Luft oder impft mit verschiedenen keimhaltigen Gemengen, wie Faulflüssigkeiten, Erde, Wasser usw. Durch solche Ausleseversuche hat man schon eine große Zahl wichtiger Entdeckungen gemacht, so die Salpeterbildner, die stickstoffbindenden und stickstoffentbindenden, die Harnstoff-, Ameisensäure-, Oxalsäuremikroben, die Wasserstoff-, Schwefel- und Eisenbakterien usw. kennen gelernt. Von umfassenden Arbeiten, die im folgenden noch öfter zu nennen sein werden, erwähne ich: N ä g e l i s ¹⁾ Forschungen über die Ernährung der niederen Pilze durch Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen, die für Pilze und Bakterien gleich wichtig sind, die interessanten Ausleseversuche, die neuerdings B i e r e m a ²⁾ mit allen möglichen Stickstoffverbindungen (außer Eiweiß) gemacht hat, S t u t z e r s ³⁾, R e i n k e s ⁴⁾, W e h m e r s ⁵⁾, R a c i b o w s k i s ⁶⁾, B o k o r n y s ⁷⁾, L a b o r d e s ⁸⁾, K l e b s ' ⁹⁾, C z a p e k s ¹⁰⁾, E m m e r l i n g s ¹¹⁾ Untersuchungen über die Ernährung der Schimmelpilze (meist *Aspergillus niger*) mit C- und N-Verbindungen, L a u r e n t s ¹²⁾,

1) Ernährung der niederen Pilze in den „Untersuchungen über niedere Pilze“. 1882.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23, 672, 1909.

3) Landwirtschaftl. Versuchstationen. 1878.

4) Untersuchg. aus d. botan. Laborat. Göttingen. 3. Heft. 1883.

5) Botan. Zeitg. 1891, 331.

6) Flora 82, 1896.

7) Koch's Jahresber. 1896, 47.

8) Ann. Pasteur 1897.

9) Jahresber. wiss. Bot. 33, 1899.

10) H o f m e i s t e r s Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 2 und 3.

11) Ber. chem. Ges. 1902. 2289 und Zentr. Bakt. 2. Abt. 10, 274. 1903.

12) Annal. Pasteur 1889 und K o c h s Jahresber. 1890, 54.

Beijerincks¹⁾, Bokornys²⁾, Pringsheims³⁾ entsprechende Arbeiten über die Hefepilze. Bakteriengemische studierte Bokorny⁴⁾, den *Micrococcus ureae* v. Jacksch⁵⁾, die verschiedenen Milchsäurebakterien Hüppe⁶⁾, C. Fränkel⁷⁾, Kayser, Capaldi u. Proskauer, Kozai, Henneberg, L. Müller⁸⁾, den Tuberkelbazillus Kühne⁹⁾, Proskauer und Beck¹⁰⁾, C. Fränkel¹¹⁾, die Essigbakterien Hoyer¹²⁾ und Henneberg¹³⁾, die *Bac. fluorescens, coli* und *typhi* Capaldi und Proskauer¹⁴⁾, Laurent¹⁵⁾, mehrere denitrifizierende Bazillen und die *Streptothrix* ((*Actinomyces*) *odorifera* Salzmann¹⁶⁾). Maassen¹⁷⁾ verdanken wir einige sehr umfangreiche Arbeiten über die Assimilation der organischen Säuren durch Bakterien. Andere wichtige Untersuchungen über die Nitro-, Schwefel- und Eisenbakterien und über die Bedeutung, der Mineralstoffe, des Sauerstoffs usw. kommen hinzu.

Wir besprechen nacheinander die Bedeutung der Aschenbestandteile (einschließlich des Schwefels und Phosphors), des Sauerstoffs, Stickstoffs, Kohlenstoffs. Der Wasserstoff bedarf keiner besonderen Zufuhr, da er schon von dem für das Leben unumgänglich nötigen Wasser und außerdem von allen organischen Verbindungen geliefert wird. Ausnahmsweise findet er auch Verwendung in freiem Zustande (§ 33).

§ 30. Bedarf an Aschenbestandteilen, Schwefel und Phosphor. Die höheren Pflanzen bedürfen zu ihrer Ernährung bekanntlich außer dem Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff noch der Elemente Schwefel, Phosphor, Kalium, Kalzium, Magnesium und Eisen, die ihm gewöhnlich in Form anorganischer Salze geliefert werden.

-
- 1) Zentr. Bakt. 11, 68, 1891.
 - 2) Kochs Jahresber. 1897, 86.
 - 3) Biochem. Zeitschr. 3, 1907.
 - 4) Kochs Jahresber. 1897. 39.
 - 5) Zeitschr. phys. Chemie 5.
 - 6) Mitteil. Gesundheitsamt 2, 1884.
 - 7) Hyg. Rundschau 1894, 769.
 - 8) Lit. in § 97 u. 99.
 - 9) Zeitschr. Biol. 29 und 30.
 - 10) Zeitschr. Hyg. 18.
 - 11) Hyg. Rundschau 1900, 617.
 - 12) Zeitschr. f. Essigindustrie 1899.
 - 13) Ebenda 98 und Centr. Bakt. 2. Abt. 4, 14.
 - 14) Zeitschr. Hyg. 23, 1896.
 - 15) Ann. Pasteur 1899.
 - 16) Chem.-physiol. Untersuchungen etc. Phil. Dissert. Königsberg 1902.
 - 17) Arb. Gesundheitsamt 12 und 18.

Niedere Algen sollen allerdings auch das Kalzium (M o l i s c h) und Kalium (B e n e c k e) entbehren können. Schon die oben (§ 29) erwähnten Versuche R a u l i n s haben erwiesen, daß Schimmelpilze auch vorzüglich auskommen mit anorganischen Salzen, die nur Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kalium und Magnesium enthalten. Freilich wird das Wachstum verstärkt durch geringe Zusätze, einige Zentigramme im Liter der Nährflüssigkeit, von Kieselsäure, Eisen und merkwürdigerweise besonders von Zink. Die Möglichkeit, daß mit der Phosphor- und Schwefelsäure dem Kalium und Magnesium der Aschenbedarf der meisten Mikroorganismen gedeckt werden kann, ist auch auf Grund der späteren Untersuchungen kaum noch zu bezweifeln. Die Tuberkelbazillen nehmen z. B. nach P r o s k a u e r und B e c k (§ 29) mit Monokaliumphosphat und Magnesiumsulfat vorlieb, die Schimmelpilze begnügen sich nach N ä g e l i ebenfalls mit den vier Elementen, nur die Hefe scheint neben dem Magnesium auch noch des Kalziums zu bedürfen ¹⁾.

Manche Autoren haben auch die Unentbehrlichkeit der Schwefelsäure leugnen zu müssen geglaubt, so hat sie C. F r ä n k e l ²⁾ aus der von U s c h i n s k y ursprünglich angegebenen Nährlösung weglassen können, ohne das Wachstum vieler Bakterien dadurch zu beeinträchtigen. B e i j e r i n c k ³⁾ kam zu ähnlichen Ergebnissen. Wahrscheinlich ist der Grund aber dafür der, daß die übrigen Bestandteile der Nährlösung Schwefel in irgendeiner Form als Verunreinigung enthalten haben. Diese Tatsache ist schon öfter festgestellt worden (A d. M a y e r ⁴⁾, N ä g e l i und L ö w). Ebenso wenig verdient die Angabe H o l t e r m a n n s ⁵⁾, Pilze seien in phosphorfreien Nährböden zu züchten, Vertrauen. Die Phosphorsäure braucht freilich nicht in Form von Salzen, sondern kann auch z. B. an Nukleinsäure gebunden dargereicht werden (I w a n o w ⁶⁾). N ä g e l i hat ferner angegeben, daß der Schwefel auch aus schweflig- und unterschwefligsauren Salzen, Sulfosäuren und Albuminaten entnommen werden könne, nicht dagegen aus Sulfoharnstoff und Rhodanverbindungen. Schwefelwasserstoff, Schwefel und niedere Oxydverbindungen des Schwefels dienen den sogenannten

1) B o k o r n y, Pflügers Arch. 97, 1903. A d. M a y e r u. a. hielten allerdings Kalzium für entbehrlich.

2) Hygien. Rundschau 1894, 769.

3) Centr. Bakt. 2. Abt., 6, 2.

4) Gärungschemie 1874. 1. Aufl., S. 129, 5. Aufl. 149. Die Unentbehrlichkeit des Schwefels für die Hefeernährung betont auch S t e r n (Proc. chem. soc. nov. 1898, nach D u c l a u x Microbiol. 3, 167).

5) Ref. Bot. Zeit. 56, 269.

6) Zeitschr. physiol. Ch. 39, 1903.

Schwefelbakterien Winogradskys und Beijerincks nicht nur als Schwefelquelle, sondern auch als Kraftquelle anstelle anderer Nahrungsmittel (§ 208 u. 210). Umgekehrt braucht das *Spirillum desulfuricans* Beijerincks (§ 212) die übrige Nahrung nur zu dem Zwecke, um den Sauerstoff der Sulfate auszunutzen. Trotz der nachweislichen Unentbehrlichkeit des Schwefels im allgemeinen wird man die Möglichkeit, daß manche niederen Organismen auch ohne Schwefel auskommen können, nicht gänzlich ablehnen, zumal da die Analysen von einigen bakteriellen Eiweißkörpern und auch von ganzen Bakterien das Fehlen des Schwefels ergeben haben (vgl. Nencki und Schaffer § 25 und die Asche des Tuberkelbazillus nach de Schweinitz und Dorset § 28).

Was das Kalium und Magnesium betrifft, so ist von Nägeli die Lehre aufgestellt worden, daß für Kalium nicht etwa Natrium und Lithium, sondern Rubidium und Cäsium, für Magnesium Kalzium, Barium oder Strontium eintreten können. Mit einigen Einschränkungen hat die erste Hälfte dieses Satzes auch durch die sorgfältigen Untersuchungen von Benecke¹⁾ Bestätigung gefunden. Rubidium und Cäsium können bei der Ernährung des *Aspergillus niger* das Kalium vertreten, allerdings ist das Wachstum etwas verzögert und führt nicht zur Sporenbildung. Lithium kann sogar, selbst in kleinen Mengen, giftig wirken, ist andererseits gelegentlich ein Reizmittel (s. u.). Unersetzlich scheint dagegen nach Benecke, Molisch²⁾ und Günther³⁾ das Magnesium zu sein, insofern als höchstens ein schwaches Auskeimen der Pilzsporen in den Mg-freien Nährlösungen eintritt, das Wachstum aber nicht soweit vorschreitet, daß an eine Wägung gedacht werden kann. Für die Wichtigkeit des Kaliums wie des Magnesiums ist beweisend die Tatsache, daß Benecke innerhalb gewisser Grenzen eine regelmäßige Zunahme des Erntegewichts mit dem steigenden Gehalt der Nährlösung an den betreffenden Salzen erhielt. Auch bei *Bac. fluorescens* und *pyocyaneus* liegen nach Benecke⁴⁾ die Dinge ähnlich. Doch gelten diese Regeln zunächst wieder nur für diejenigen Mikroorganismen, für die sie festgestellt sind⁵⁾. Es liegen schon Mitteilungen vor, die dartun, daß das Aschenbedürfnis ein recht verschiedenes ist. Sehr sorgfältig scheint wenigstens von Gerlach

1) Jahrb. wiss. Bot. 28, 1898.

2) Sitzungsber. Wien. Akad. 103, 1894.

3) Dissertation Erlangen 1897.

4) Bot. Zeit. 1907. Hier wurden Bergkristallgefäße benutzt.

5) Vergl. auch „Neue Forschungen über die Bedeutung der Neutralsalze für die Funktionsfähigkeit des tierischen Protoplasmas“. Sammelreferat von Höber, Biochem. Centralbl. 1903, 497.

und V o g e l ¹⁾ festgestellt worden zu sein, daß das *Azotobacter Chroococcum*, das den freien Stickstoff der Atmosphäre assimiliert, nur mit Kalk und Phosphorsäure versorgt zu werden braucht, die Alkalien aber völlig entbehren kann. Ferner können *Bac. Stutzeri* und *Hartlebi* nach S a l z m a n n (§ 29) ihren Mineralbedarf aus Kalium und Phosphorsäure decken, wenn ihnen daneben noch eine Spur von Schwefelsäure geboten wird. Der Nachprüfung bedürftig ist die Angabe C. F r ä n k e l s , daß Natriumphosphat als einziger mineralischer Bestandteil in einer Asparaginlösung für viele Bakterien genüge (a. a. O.) und ferner die Bemerkung von P r o s k a u e r und B e c k , daß Tuberkelbazillen auch auf kaliumfreien Nährböden zu wachsen imstande seien.

Über die Bedeutung des Eisens für die Ernährung der Mikroorganismen sind die Akten noch nicht geschlossen. M o l i s c h ²⁾ hatte im Gegensatz zu früheren Forschern die Notwendigkeit dieses Metalles bei der Ernährung der Pilze betont und die entgegenstehenden Befunde durch Verunreinigung der Nährstoffe mit Eisen erklärt. S t o k l a s a ³⁾ fand das auch für den *Bac. megatherium* bestätigt. B e n e c k e glaubt sich nicht so entschieden aussprechen zu dürfen, wenn er auch, wie W e h m e r ⁴⁾, eine Begünstigung des Wachstums und der Sporenbildung durch Eisen, also eine R e i z w i r k u n g dieses Metalls zugibt. Schon R a u l i n hatte das ja gefunden (§ 29). W i n o g r a d s k y (§ 209) sah auch die Entwicklung der Purpurbakterien, K o s s o w i c z ⁵⁾ die der Hefe, L o e w und K o z a i ⁶⁾ die des *Bac. prodigiosus* durch Eisen gefördert. Längst bekannt ist die Beziehung des Eisens zu der Vegetation der sog. E i s e n b a k t e r i e n (*Crenothrix polyspora*, *Leptothrix* und *Cladothrix ochracea* usw.), d. h. fädiger Organismen, die in ihrer Scheide Massen von Eisenoxydhydrat aufhäufen. Über diesen Prozeß selbst, der zu dem Leben dieser Bakterien in einem engen Verhältnis stehen soll, werden wir später handeln (§ 216), hier interessiert uns nur die Tatsache, daß das im Wasser gelöste Eisenoxydul die Quelle dieser Ablagerung ist, daß nach M o l i s c h das Eisen durch Mangan vertreten werden kann und letzteres nach anderen sogar notwendig ist für die Entwicklung einiger Pilze. Bei den übrigen Mikroorganismen leugnet M o l i s c h die Möglichkeit, Eisen durch Mangan, Kobalt u. dgl. zu ersetzen.

1) Zentr. Bakt. 2. Abt., 10, 639.

2) Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.

3) Compt. rend. ac. sc. 127, 282, 1898.

4) K o c h s Jahresber. 1895, 70.

5) Zeitschr. landwirtsch. Versuchswesen Österreichs, 1903.

6) Ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 10, 264, 1903.

Ähnliche Reizwirkungen üben auch andere Metalle aus, so nach R a u l i n u. a. das Zink, das allerdings die Konidienbildung beeinträchtigt, nach R i c h a r d s¹⁾ das Lithium²⁾ auf Pilze, nach S t o k - l a s s a das Mangan auf die Azotobakterien (§ 203).

Vollständig von den bisherigen Erfahrungen über die Notwendigkeit der Mineralsalze zur Ernährung weichen die Befunde von F e r m i³⁾ ab. Er erhielt in Eisen-, Blei-, Kupfer- und Nickelgefäßen auf 2 prozentigen Lösungen von milchsaurem Ammon, die frei von anorganischen Stoffen waren, Ernten des *Aspergillus niger*, die getrocknet 0,5, 0,4, 0,33 und 0,08 g wogen und deren Asche nur aus den betreffenden Metallen bestand. In Gold-, Aluminium-, Zinn-, Nickel- und Porzellangefäßen erfolgte auf ähnlichen Nährlösungen ebenfalls Entwicklung des Pilzes mit fast unsichtbarem Rückstand bei der Veraschung. Silbergefäße erlaubten zuerst das Wachstum nicht, nach Zusatz von Rohrzucker und Glyzerin trat aber ein solches schließlich ein.

Auch C a c h e⁴⁾ will beim *Bact. coli* ein Wachstum erzielt haben auf einem Nährboden, der außer sorgfältig destilliertem Wasser nur Traubenzucker, Asparagin und etwas Ammoniak enthielt. Reichlicher wurde dieses Wachstum allerdings erst, wenn Kaliumphosphat und Natriumsulfat hinzukamen, und Gärung trat erst ein nach Zusatz eines Magnesium- oder Kalziumsalzes.

Die Wichtigkeit des Magnesiumsulfats für die Farbstoffbildung (§ 254) und die der Salzart und -menge für die Lichtentwicklung (§ 238), die Schädlichkeit starker Salzlösungen (§ 40) besprechen wir später.

§ 31. Bedarf an Sauerstoff. Aërobiose und Anaërobiose. Bei den Mikroorganismen hat man zuerst die allen früheren Beobachtungen widerstrebende Erfahrung gemacht, daß ein Leben ohne freien Sauerstoff möglich ist, ja, daß es sogar unter ihnen solche gibt, die bei Zutritt von freiem Sauerstoff überhaupt nicht bestehen können, sondern durch ihn getötet werden. P a s t e u r⁵⁾ fand diese merkwürdige Eigenschaft zuerst im Jahre 1861 bei den „Vibrionen“ der Buttersäuregärung, bald darauf auch bei Bakterien, die weinsauren Kalk vergoren, und führte dann auch die stinkende Fäulnis auf derartige Lebewesen zurück. Die Methoden, mit denen P a s t e u r arbeitete, genügen hohen Anforderungen, und man be-

1) Jahrb. wiss. Bot. 30, 665, 1897.

2) Vgl. über Lithiumwirkung auch § 3.

3) Zentr. Bakt. 29.

4) Zentr. Bakt. 40, 256, 1905.

5) Compt. rend. ac. sc. 52, 340 u. 1260; 56, 1190.

greift heutzutage, wenn man die Arbeiten des genialen Franzosen studiert, nicht recht, wie es möglich war, daß seine Lehre noch lange Zeit Zweifeln begegnete. Es wäre das wohl auch nicht geschehen, wenn P a s t e u r nicht selbst von Anfang an die „Anaërobiose“ mit einem anderen wichtigen Lebensvorgang, um dessen Kenntniss er sich ebenfalls die größten Verdienste erworben hat, der Gärung, verknüpft hätte. Nach ihm ist G ä r u n g n i c h t s w e i t e r a l s L e b e n o h n e S a u e r s t o f f. Wir werden später bei Betrachtung der energetischen Verhältnisse (§ 223 u. 233) sehen, daß dieser Satz im wesentlichen richtig ist, daß aber ein scheinbarer Widerspruch daraus entsteht, daß in manchen Fällen auch mit Sauerstoffzutritt die Gärung möglich ist, ja bis zu einem gewissen Grade dadurch gefördert wird. Das war experimentell, und zwar gerade bei der bekanntesten, der alkoholischen Gärung, leicht nachzuweisen und konnte natürlich der P a s t e u r - schen Theorie Abbruch tun. So hat man sich denn auch Mühe genug gegeben, weiter nachzuweisen, daß es eine eigentliche Anaërobiose überhaupt nicht gebe, sondern daß immer noch S p u r e n f r e i e n S a u e r s t o f f e s im Nährboden zurückbleiben, die erst das Leben ermöglichen. Bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse ist klar, daß man, selbst wenn dieser Nachweis gelungen wäre, damit nichts gewonnen hätte, da ja der Sauerstoff bei den gewöhnlichen sauerstoffliebenden Lebewesen nicht etwa als ein Kontaktkörper betrachtet werden kann, der selbst in den kleinsten Mengen fortdauernd seine Wirksamkeit behält, sondern als ein Stoff, der nur in demselben Verhältnis das Leben ermöglicht, als er dabei verbraucht wird, und dessen Menge dabei erfahrungsgemäß nicht unter einer gewissen, recht beträchtlichen Größe liegen darf. Der Grund dafür besteht darin, daß bei den „strengen Aërobiern“ die durch den Sauerstoff der Luft vermittelten Oxydationen ausreichen müssen, den gesamten, für das Leben nötigen Energiebedarf zu decken, und das wird durch Spuren Sauerstoff niemals geleistet. Das grundsätzlich abweichende Wesen der Anaërobiose beruht dagegen, wie P a s t e u r ganz richtig erkannte, darin, daß die zum Leben nötige Energie aus anderen Quellen geschöpft werden muß als aus den Oxydationen, und diese Quellen erkannte er ebenso richtig in den Gärungen. In der Folge hat sich gezeigt, daß der hier geschilderte Gegensatz zwischen strenger („obligater“) Aërobiose und Anaërobiose in Wirklichkeit nicht so groß ist, als es zuerst schien, weil er durch Übergänge ausgeglichen wird.

Betrachten wir zunächst die Beziehungen des Wachstums der Mikroben zum freien Sauerstoff. Da hat sich, wie das ja eigentlich von vornherein zu erwarten war, da es in der Natur keine Sprünge gibt, herausgestellt, daß das Wachstum der einzelnen Arten nicht so sehr

von dem unbedingten Mangel oder Vorhandensein, als von der Menge des Sauerstoffs, seiner Spannung abhängig ist. Es zeigt sich erstens, daß die strengen Anaërobier allerdings imstande sind, bei gänzlichem Sauerstoffabschluß gut zu wachsen, aber auch bei gewissen niedrigen Sauerstoffspannungen noch dazu befähigt sind. Chudjakow¹⁾ verdanken wir darüber genaue Mitteilungen. Das *Bactridium butyricum* war am empfindlichsten gegen den Sauerstoff, es wurde am Wachstum verhindert bei Verdünnung der Atmosphäre auf 15 mm Druck, gedieh aber noch bei einem Luftdruck von 5 mm, d. h. einem Sauerstoffgehalt von 0,13%. Das *Clostridium butyricum* wuchs noch gut bei 10 mm, die Bakterien des malignen Ödems und Tetanus bei 20 mm und die Rauschbrandbazillen sogar noch bei 40 mm Druck. Ebenso interessant sind die Feststellungen, die Chudjakow an strengen Aërobiern machte. Sie vertrugen zwar den völligen Sauerabschluß nicht, wuchsen aber doch, wenn auch kümmerlich, bei recht niedrigen Spannungen. Der *Bac. subtilis* z. B. vermehrte sich noch bei 10 mm Druck, nicht mehr bei 5 mm. Der *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und *Mucor stolonifer* entwickelten sich sogar noch etwas bei 5 mm Druck. Umgekehrt wurden selbst die luftliebenden Mikrobien durch zu stark erhöhte Sauerstoffspannungen am Wachstum gehindert, so z. B. der *Bac. subtilis* durch einen Druck von 2—4 Atmosphären, der *Aspergillus niger* und die Bierhefe durch einen solchen von 2½—3 Atmosphären.

Neuerdings hat Porodko²⁾ die Untersuchungen Chudjakows vervollständigt, indem er für eine größere Reihe von Bakterien den größten und kleinsten Sauerstoffdruck feststellte, bei dem noch ein Wachstum eintrat³⁾. Die Ergebnisse waren folgende:

Art der Mikroorganismen	Sauerstoffmaximum	Sauerstoffminimum
	in Atmosphären ⁴⁾	in Vol.-%
Schwefelbakt. Nathanson (§ 210)	0,68—0,81	—

1) Russisch 1896. Ref. Zentr. Bakt. 2. Abt., 4. 389. und Kochs Jahresber. 1897, 44.

2) Jahrb. wiss. Bot. 41, 1904.

3) Die geringen Sauerstoffspannungen wurden dadurch erzielt, daß die Luft in einer Glasglocke mittels Wasserstrahlpumpe auf 2 mm Druck (0,06 Vol. % Sauerstoff) verdünnt, dann reiner Wasserstoff zugelassen und nochmals auf 2 mm — 0,00016% O — ausgepumpt wurde. Die Angaben der Tabelle beziehen sich übrigens auf eine Versuchsdauer von höchstens 8 Tagen. Bei einer solchen von 29 Tagen war noch nach dreimaligem Auspumpen (0,0000004% O) Wachstum der Schwefelbakterien, des *Pyocyaneus* und *Fluorescens* zu bemerken.

4) Eine Atmosphäre reinen Sauerstoffs entspricht einer Sauerstoffspannung von 760 mm, d. h. einer etwa fünfmal größeren als der gewöhnlichen.

Art der Mikroorganismen	Sauerstoffmaximum in Atmosphären	Sauerstoffminimum in Vol.-%
Bac. β (Saprophyt)	1,26—2,22	0
Rosahefe	1,68—1,94	0,00016—0,06
Bac. cyanogenus	1,68—1,94	0,00016—0,06
Spirillum volutans	1,68—2,25	—
Bac. pyocyaneus	1,81—2,18	—
Bac. mycoides	1,94—2,18	—
Bac. fluoresc. liquefac.	1,94—2,51	0,00016
Aspergillus niger	1,94—2,51	0,06—0,66
Sarcina lutea	2,51—3,18	0,00015—0,06
Vibrio albensis	2,51—3,18	0—0,00016
Penicillium glaucum	3,22—3,63	0,06—0,66
Mucor stolonifer	3,22—3,63	0,06—,0,66
Bac. subtilis	3,18—3,88	0,—0,00016
Bac. proteus vulgaris	3,63—4,35	0
Bac. coli communis	4,09—4,84	0
Bac. prodigiosus	5,45—6,32	0
Bac. ϵ	9,38—?	0

Hiernach wären die Schimmelpilze am empfindlichsten gegen Sauerstoffmangel, die meisten streng aëroben Bakterien wüchsen noch bei Vorhandensein einer so geringen Sauerstoffspannung, daß die strengen Anaëroben dabei gedeihen könnten. Manche bekannte „fakultative Anaërobier“, wie der Coli-, Prodigiosus- und Proteusbazillus entwickelten sich in den weitesten Grenzen, nämlich von 0 bis 4—6 Atmosphären Sauerstoffdruck, d. h. bei vollständigem Mangel des Sauerstoffs und noch bei einem Überdruck von 20—30 gewöhnlichen Atmosphären. Das Vorhandensein indifferenter Gase (Stickstoff, Wasserstoff) ändert an dem Ausfall der Versuche nichts, wie schon P. B e r t für höhere Organismen gefunden hatte (vgl. § 44). Die Teilverrichtungen der Mikroorganismen werden durch verminderte Sauerstoffspannung ungleich beeinflußt. Zuerst erlischt die Fähigkeit der Farbstoffbildung bei den Bakterien und der Sporenbildung bei den Schimmelpilzen.

M. W u n d t ¹⁾ hatte bei der Untersuchung von 22 saprophytischen Arten ähnliche Ergebnisse. Zur Ergänzung dieser Tatsachen dienen einige, zum Teil schon früher gemachte Beobachtungen. So hatte schon P a s t e u r bemerkt, daß das Wachstum der Hefe um so geringer wird, je vollständiger man den Sauerstoffzutritt ausschließt (§ 233). Später ist das allgemein anerkannt, über die Frage, ob nun wirklich die Hefe zu den strengen Aërobiern gehöre, d. h. ohne freien Sauerstoff nicht zu

1) Phil. Dissert. M a r b u r g 1906, vgl. Bot. Zeitg. 1906, 344.

wachsen vermöge, ist aber noch kein völliges Einverständnis erzielt worden. Wahrscheinlich ist es aber — wenigstens für die gewöhnliche Bierhefe. *Winogradsky* beschrieb ferner schon 1887 ein eigentümliches Verhalten der Schwefelbakterien (§ 208). Obwohl die Begiatioen des Sauerstoffs der Luft zu ihrem Leben bedürfen, entwickeln sie sich stets erst in einiger Entfernung von der Oberfläche der Flüssigkeit. *Winogradsky* erklärte das daraus, daß die Mikroben gleichzeitig auf den Schwefelwasserstoff angewiesen wären, der bei allzu reichlichem Sauerstoffzutritt nicht bestehen könnte. Daraus mag sich ja allerdings die Anpassung an die geringere Sauerstoffspannung entwickelt haben. *Beijerinck*¹⁾ machte bei dem *Amylobacter butylicum* folgende Beobachtung. Insofern erwies es sich als Anaërobier, als es in Würze durch Zutritt freien Sauerstoffs am Wachstum gehindert wurde und bei strenger Anaërobiose durch beliebig viele Gärungsgenerationen hindurchgeführt werden konnte. Andererseits gedieh es aber auch in Leitungswasser mit 1% Pepton und 0,5% Stärkekleister bei niedriger Temperatur, ohne daß der Sauerstoff völlig abgeschlossen war, ja, es wuchs anscheinend sogar besser als bei Luftabschluß. Auch die Würze soll nach dem Auskochen noch Sauerstoff gebunden enthalten. Ein gewisses Maß von Sauerstoffspannung wäre also nach *Beijerinck* diesen Bakterien nicht nur zuträglich, sondern sogar nötig. Das erstere können wir nicht bestreiten, das letztere ist aber nicht bewiesen, im Gegenteil unwahrscheinlich. Besser bewiesen ist die „Mikroaërophilie“, d. h. die Vorliebe für einen niederen Sauerstoffdruck durch *Beijerinck*²⁾ bei einigen anderen Bakterien. Zuerst beobachtete er in einer dünnen wässerigen Bohnenaufschwemmung im Reagenzglas eine Ansammlung bestimmter Bakterien in einer gewissen Höhe der Flüssigkeitsschicht. Dies „Bakterienniveau“ bildet sich aber ebenso in Reinkulturen und bei andern Bakterien. So sollen Typhus- und Colibazillen sogar ein doppeltes Niveau erzeugen. Auch zwischen Deckglas und Objektträger lassen sich „Atmungsfiguren“ erhalten³⁾. Hierher gehört auch das Verhalten des von *Bang*⁴⁾ und *Stribolt* studierten *Bazillus* des seuchenhaften Abortus des Rindes. In hohen Schichten von Serumagar entwickelt sich derselbe unter gewöhnlichen Umständen nur in einer Zone von 1,—1,5 cm Breite und 0,5 cm unter der Oberfläche, in einer sehr sauerstoffreichen Atmosphäre aber gerade an der Oberfläche. Es bestehen für ihn also zwei Sauerstoffoptima. Das gilt

1) Verhandel. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam 1893, 2. Sect. I.

2) Zentr. Bakt. 14. 827, 1893.

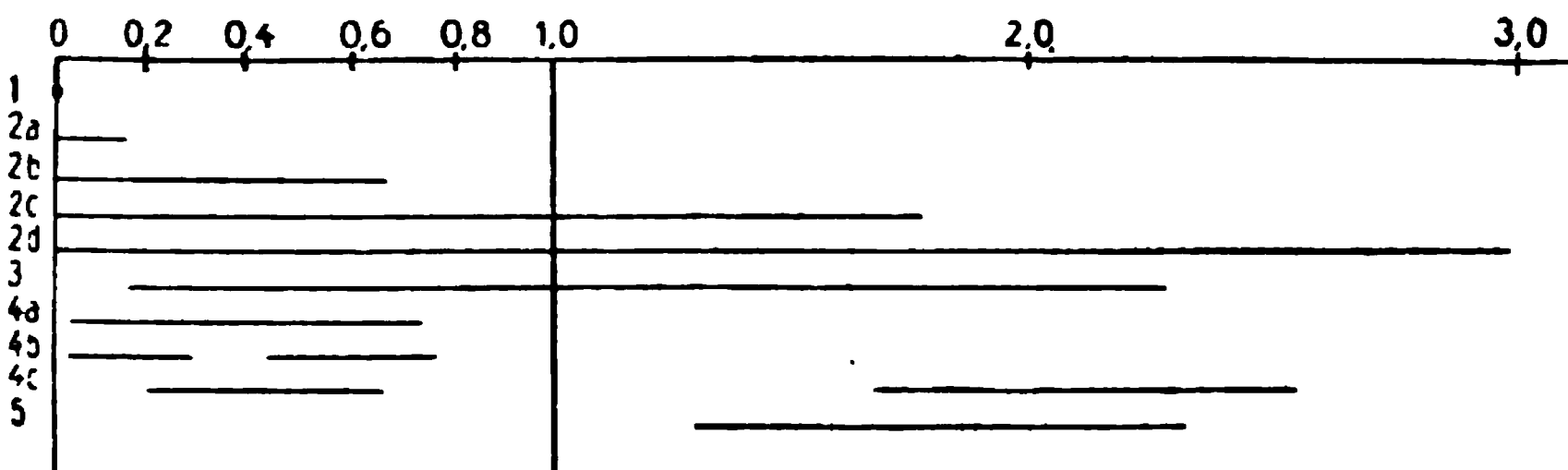
3) Weiteres über Bakterienniveaus und Atmungsfiguren § 56.

4) Zeitschr. Tiermed. 1, 1897, vgl. *Ostortag* in *Kolle-Wassermann*, Handb. 3. 830.

nach R. Müller¹⁾ auch für den Bazillus der Geflügeldiphtherie und nach Wittneben²⁾ auch für manche Eiterstreptokokken. Nur liegen hier die beiden Optima unter dem gewöhnlichen Sauerstoffdruck, und bei dem erstgenannten Bazillus findet sich noch die Eigentümlichkeit, daß er bei Vorhandensein von Hämoglobin (Blutagar) auch auf der Nährbodenoberfläche wächst (s. u.).

Man kann sich das Sauerstoffbedürfnis der Kleinwesen etwa in folgender Weise zeichnerisch veranschaulichen. In nachstehender Figur ist die Sauerstoffspannung, innerhalb deren ein Wachstum möglich ist, durch Linien von verschiedener Begrenzung angegeben.

Sauerstoffdruck in Atmosphären³⁾.



Nr. 1, wo die Linie auf einen Punkt zusammengeschrumpft ist, würde Anaërobier im strengsten Sinne des Wortes bezeichnen, d. h. Keime, die überhaupt nur bei vollständigem Sauerstoffabschluß gedeihen könnten. Ob es solche gibt, ist aber nach den oben erwähnten Angaben Chudikows fraglich. Nr. 2a und 2b gibt die Verhältnisse ungefähr so wieder⁴⁾, wie sie bei den bisher bekannten strengen Anaërobiern wirklich bestehen; Nr. 2c und 2d die Verhältnisse der sogenannten fakultativen Anaërobier (z. B. Coli- und Proteusbazillen). Nr. 3 entspricht den Bedingungen bei den strengen Aërobiern (Schimmelpilzen, Hefen, Subtilis). Nr. 4a würde etwa für Beggiatoen⁵⁾ bezeichnend sein,

1) Zentr. Bakt. 41. 521 und 621.



2) Ebenda 44. 99.

3) Die senkrechte Linie bei 1,0 bezeichnet die Stelle der normalen Sauerstoffspannung (etwa 21 Volumprozent). Hier sind also gewöhnliche Atmosphären gemeint.

4) Auf eine genaue Wiedergabe der Maßverhältnisse mußte der Deutlichkeit wegen verzichtet werden.

5) Die Purpurbakterien verhalten sich nach Molisch (Purpurbakterien 1907, 50 ff) verschieden. Einige entsprechen dem Typus 2a und b, andere (Spirillum rubrum) 2c, wieder andere 4a. Die zur Bildung des Farbstoffs (vgl. § 209 u. 254) nötige Sauerstoffspannung ist auch ungleich.

4b für die Bazillen der Geflügeldiphtherie und manche Streptokokken, 4c für die Abortusbazillen. Auch Nr. 5, d. h. ein ausschließliches Wachstum bei höherer als atmosphärischer Sauerstoffspannung wäre denkbar, ist aber noch nicht nachgewiesen.

Unsere Zeichnung würde die natürlichen Beziehungen noch genauer wiedergeben, wenn wir der Einfachheit halber nicht darauf verzichtet hätten, statt der geraden Linien keil- oder spindelförmige Figuren anzulegen,  oder , um damit anzudeuten,

daß das Wachstum in der betreffenden Zone nicht gleichmäßig ist, sondern von einer oder beiden Seiten bis zu einem Höhepunkt zunimmt, oder wenn wir versucht hätten, auch noch, etwa durch übereinander gelegte farbige Striche, die Tatsache auszudrücken, daß auch die übrigen Eigenschaften der Mikroben, wie z. B. die Sporenbildung und -Auskeimung, Beweglichkeit und Bewegungsrichtung, die Ferment-, Farb- und Leuchtstoffbildung von der Sauerstoffspannung abhängig sind. Die Untersuchungen von Hansen, Wundt (a. a. O.) u. a. haben nämlich ergeben, daß diese Eigenschaften meist in Spannungsgrenzen zutage treten, die bei den einzelnen Arten recht ungleich sind. Regelmäßig sind diese Grenzen enger gezogen als diejenigen für das Wachstum; indessen gilt das anscheinend nur für die Bildung, nicht für die Tätigkeit der Leuchtstoffe, sowie der Fermente. So genügen schon die kleinsten, für das Wachstum ungenügenden Spuren von Sauerstoff, um phosphoreszierende Bakterien zum Leuchten zu bringen (§ 238), und mit oder ohne Sauerstoff behalten die einmal gebildeten Enzyme ihre Wirksamkeit. Am besten scheint die obige Regel bewiesen zu sein für die Sporenbildung bei Bakterien, Hefe usw. Doch wird von Migula¹⁾ und Matsushita²⁾ angegeben, daß obligate Anaerobier Sporen auch bei freiem Luftzutritt bilden können. Es mag dahingestellt bleiben, ob hier die plötzliche Erhöhung der Sauerstoffspannung nicht bloß als Reiz zu beschleunigter Entwicklung auf die schon in Sporenbildung begriffenen Keime wirkt. Auch sonst ist die Vorstellung, daß der Sauerstoff bei Anaerobiern einen Reiz darstelle, ausgesprochen worden, so sollen nach Burri und Kürsteiner³⁾ Putrificusbazillen, die vorher anaerob zu wachsen angefangen haben, durch Sauerstoffzutritt zu reichlichem Wachstum angeregt werden können. Die Beobachtung selbst scheint uns bei der oft unregelmäßigen Ausbeute in den Kulturen

1) Lafars Handb. 1. 112, 1904.

2) Arch. Hyg. 43, 1903.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt., 21. 289, vgl. Pringsheim ebenda 673.

noch nicht genügend gesichert zu sein. Die Möglichkeit einer Reizwirkung besteht aber vielleicht hier wie für andere Gifte (§ 55). Daß der Sauerstoff in höherer Konzentration wirklich ein Gift für Anaëroben ist, kann u. a. nach P a s t e u r s und C h u d i a k o w s Erfahrungen nicht bezweifelt werden. Letzterer Forscher stellte fest, daß die Giftigkeit um so deutlicher hervortritt, je höher die Spannung über das noch mit dem Wachstum verträgliche Maaß steigt. Wie sich diese Giftwirkung erklärt, ist nicht bekannt, — man könnte daran denken, daß sich ihnen Oxydationsprodukte¹⁾ in gewisser Konzentration schädlich erwiesen. Besondere Schwierigkeiten macht natürlich das Verhalten der Mikroorganismen mit „doppeltem Niveau“ (s. o. S. 100). Übrigens liegen bei diesen noch keine Beobachtungen über die Giftigkeit des Sauerstoffs in der für das Wachstum ungenügenden Zone vor. Ebenso fehlen genügende Untersuchungen über die Schädlichkeit des Sauerstoffmangels bei den Aërobiern. Man weiß nur, daß diese beim Aufhören der Sauerstoffzufuhr nicht weiter wachsen, ob sie aber in ähnlicher Weise wie höhere Tiere und Pflanzen an dem Sauerstoffmangel „ersticken“, ist nicht untersucht. Wahrscheinlich ist eine p l ö t z l i c h e Wirkung bei den aëroben Mikroorganismen aber nicht, sondern sie sterben allmählich unter den Erscheinungen der Selbstverdauung (§ 9 u. § 166) und Selbstvergärung (§ 91) ab.

Zweifel bestehen ferner über die Möglichkeit einer zeitlich beschränkten Anaërobiose. P a s t e u r ²⁾ hatte aus seinen Beobachtungen geschlossen, daß die Hefe imstande sei, einen Sauerstoffvorrat aufzuspeichern, der ihr gestatte, eine gewisse Zeit auch ohne freien Sauerstoff zu wachsen. B e i j e r i n c k ³⁾, der diese Zeit für die Hefe auf etwa 20—30 Generationen festsetzte, glaubte dann auch sein *Amylobact. butylicum* und überhaupt alle sogenannten obligaten Anaërobier bzw. die von ihm selbst früher „permanente fakultative“ Anaërobier genannten Bakterien als „temporäre fakultative Anaërobier“ auffassen zu dürfen. Das ist aber nach den zahlreichen Erfahrungen, die über dauernde Fortzüchtung der letzteren unter Sauerstoffabschluß vorliegen, ausgeschlossen. Daß es dagegen

1) Sicher ist, daß kleinste, an sich mit dem Leben verträgliche Sauerstoffmengen, die echten Anaëroben beständig geboten werden, in den Kulturen verschwinden, also zu irgend welcher Oxydation benutzt werden; daher kann man die strengen Anaëroben nicht definieren als Wesen, die zur Oxydation ganz unfähig seien; nur beschränkt und nicht unumgänglich nötig ist ihre Oxydationsfähigkeit.

2) *Etudes sur la bière*, 1876.

3) a. a. O. und Zentr. Bakt. 2. Abt., 2. 41, vgl. F e r m i und B a s s u, Zentr. Bakt. 1. Abt., 38. 138 ff., 1905.

eine Sauerstoffspeicherung gibt, zeigte Ewart¹⁾ an einigen Bakterien, wie *Bact. brunneum*, *cinnabarinum*, *Micr. agilis*, *Staphyl. citreus*, *Bac. janthinus*. Die Fähigkeit scheint an Farbstoffe gebunden zu sein (§ 253). Der Beweis wurde dadurch erbracht, daß Mikroben, die auf Sauerstoffzutritt mit Bewegungen antworten, bei Gegenwart des betreffenden Bakteriums beweglich wurden. Die Bedeutung der Einrichtung scheint danach weniger darin zu liegen, daß der gespeicherte Sauerstoff für die eigene Atmung der Pigmentbakterien verwendet, als an die Umgebung abgegeben wird. Die ganze Frage der zeitweiligen Anaërobiose und Sauerstoffspeicherung bedarf übrigens noch einer gründlichen Bearbeitung.

Mit der zeitlich beschränkten Aërobiose²⁾ und Anaërobiose ist nicht zu verwechseln die durch Anpassung (oder freiwillige „Mutation“) erworbene oder durch Unterschiede in der Zusammensetzung des Nährbodens bedingte Änderung des Verhaltens zum Sauerstoff. Daß es Rassen von Rauschbrand-³⁾ und Tetanusbazillen⁴⁾ gibt, die mehr oder weniger gut den Sauerstoff vertragen, ist bekannt (§ 352). Durch allmähliche Steigerung der Luftzufuhr vermochte Chudjakow das *Bactridium butyricum*, Rosenthal⁵⁾ den *Bac. botulinus*, die Achalmeschen Bazillen des Gelenkrheumatismus, den Bazillus des Gasbrandes und malignen Ödems an höhere und sogar an die gewöhnliche atmosphärische Sauerstoffspannung zu gewöhnen. Umgekehrt gelingt es auch, Bakterien an geringe Sauerstoffspannung anzupassen. So sah Lafforgue⁶⁾ den *Bac. mesentericus*, der sonst Häute auf der Oberfläche bildet, in Filtraten schon bewachsener Bouillon unter Trübung der ganzen Flüssigkeit wachsen und diese Neigung zur Anaërobiose auch beibehalten⁷⁾. Um keine Umwandlung, sondern nur um die Folge einer ungleichen Empfindlichkeit gegenüber dem Sauerstoff bei verschiedenen Temperaturen handelte es sich in dem vom Verfasser beobachteten Fall. Ein köpfchensporenbildender Bazillus kam zwar bei 24° auf der Oberfläche der Nährböden leidlich fort, nicht aber bei 37°, wo er nur in der Tiefe des Stichs gedieh. Umgekehrt liegen die Dinge nach Rabinowitsch⁸⁾ und Schütze⁹⁾ bei thermophilen Bakterien

1) Bei Pfeffer, Verhandl. k. sächs. Ges. Wiss. Leipzig 1896. 46. 379.

2) So kann man die oben auf Reizwirkungen zurückgeführten Erscheinungen benennen.

3) Kitt, Zentr. Bakt. 17. 168, 1895.

4) Braatz, ebenda 737, Righi, ebenda, ref. 315.

5) Compt. rend. soc. biol. 50. 1292, 1903; 60. 874, 1906.

6) Soc. biol. 18. V. 1907.

7) Vgl. auch Garbowski: Zentr. Bakt. 2. Abt. 19—20.

8) Zeitschr. f. Hyg. 20, 159.

9) Arch. Hyg. 67, 55.

und Strahlenpilzen, die bei niedrigerer Temperatur besser anaërob, bei höherer besser aërob wachsen (§ 42).

Die Abhängigkeit des Sauerstoffbedürfnisses von der Zusammensetzung der Nährböden ist schon den früheren Forschern auf dem Gebiete der Anaërobiose aufgefallen. So beruhen viele zur Züchtung der Anaëroben angegebenen Verfahren¹⁾ auf bestimmten Zusätzen zum Nährboden. Zucker empfahlen dafür schon Pasteur und dann Liborius²⁾, dem wir die erste systematische Behandlung des Reinkulturproblems bei Anaëroben verdanken. Kitasato und Weyl³⁾ hatten ähnliche Erfolge mit ameisensaurem Natron, indigschwefelsaurem Natron, Brenzkatechin oder Eikonogen, Beijerinck⁴⁾ mit Natriumhydrosulfit, Trenkman⁵⁾ mit Schwefelwasserstoff und Natriumsulfid, Hammerl⁶⁾ mit Ammonsulfhydrat. Hata⁷⁾ züchtete Ödembazillen sogar in gewöhnlichen Bouillonröhrchen mit 0,3% Ferrosulfat, allerdings war das Wachstum nur gut, wenn die durch den Zusatz entstehende Trübung nicht durch Filtrieren beseitigt worden war. Diesen letzteren Untersuchungen schlossen sich an die Beobachtungen von Th. Smith⁸⁾, Tarozzi⁹⁾, Wrzosek¹⁰⁾, Pfuhl¹¹⁾, Harras¹²⁾, Liefmann¹³⁾, Guillemot und Szczawinska¹⁴⁾ und Hata selbst über die Möglichkeit, Anaëroben ohne besondere Vorsichtsmaßregeln zur Entfernung des Sauerstoffs in Nährböden zu züchten, denen man gewisse Fremdkörper zugesetzt hatte. Ursprünglich hatte man dazu keimfrei entnommene Stück-

1) Vgl. außer den Lehrbüchern und Omelianski. in Lafars Handb. I. 576, 1907, z. B. bei Fermi und Bassu (Zentr. Bakt. 35 u. 38 1905, bis 1906), Matzushita (Arch. Hyg. 43, 1902); ferner die Abänderungen des Botkinschen Verfahrens durch Grassberger und Schattenfroh (Arch. Hyg. 37 und 42), Ghon und Sachs (Centr. Bakt. 32); die Züchtung in luftleerem Raum bzw. unter verschiedenem Druck bei Porodko (im Text S. 98), bei A. Meyer (Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 337, 1905 und Bredemann (ebenda 23. 409, 1909).

2) Zeitschr. Hyg. 1, 1886.

3) Ebenda 8, 1890.

4) S. o. Verhandel. Akad. Wet. 1893.

5) Zentr. Bakt. 23. 1038, 1898.

6) Ebenda, 30. 658, 1901.

7) Ebenda 46. 549, 1908.

8) Smith, Walker und Brown, Journ. med. research. 14, 193, 1905.

9) Zentr. Bakt. 38. 619, 1905.

10) Wien. klin. Woch. 1905, 1268. Centr. Bakt. 43. 17; 44. 607.

11) Ebenda 44. 378, 1907.

12) Münch. med. Woch. 1906, 46.

13) Ebenda 1907, 17.

14) Soc. biol. I. II. 1908.

chen lebender tierischer oder pflanzlicher Organe empfohlen und als dabei wirksam eine hitzeempfindliche organische Substanz angesehen. Diese Substanz sollte auch in Lösung gehen, so daß die Bouillon auch nach Herausnahme des Organstückchens zur Züchtung brauchbar wäre. Die nähere Prüfung zeigte aber, daß die Hitzeempfindlichkeit nur eine relative ist, die organischen auch durch unorganische Stoffe wie Kohle, Kreide, Eisen, Zink, Zinn, weniger gut durch Aluminium und dessen Verbindungen, soweit sie einen Niederschlag geben, ersetzt werden können, die Hauptsache also das Vorhandensein gröberer oder nur als Trübung erscheinender Fremdkörper ist, die wahrscheinlich allerdings nicht allein als solche, d. h. indem sie den Anaërobiern mechanischen Schutz vor dem unbeschränkten Luftzutritt gewähren, sondern auch durch ihre Reduktionskraft wirken. Die Wirkung wird daher auch befördert durch reichliche Einsaat von Keimen und durch Mitübertragung von festen (klumpigen) Kulturstückchen, z. B. von Agar. Die oben erwähnten gelösten Stoffe einschließlich des Zuckers hatte man ja auch im Hinblick auf ihre Reduktionskraft ausgewählt. Durch diese Feststellungen wurden auch ältere Erfahrungen, die man über den günstigen Einfluß von Mischkulturen auf das Wachstum der Anaërobier gemacht, verständlich. Schon Pasteur hatte beobachtet, daß luftliebende Bakterien, wenn sie in Gemeinschaft mit Anaëroben wachsen, deren Gedeihen befördern, sei es, indem sie durch Deckenbildung den Zutritt der Luft in die Tiefe der Nährflüssigkeit behindern, sei es, indem sie den darin schon gelösten Sauerstoff in Beschlag nehmen. Er führte darauf die Möglichkeit für Anaëroben, unter natürlichen Verhältnissen sich zu entwickeln, zurück. Später wurde die Tatsache selbst allgemein bestätigt, ja, es gelang Kedrowsky¹⁾ selbst bei langsamer Durchleitung von Luft durch die Kulturflüssigkeit oder auf schrägem Agar Aëroben und Anaëroben nebeneinander zu züchten. Nach Scholtz²⁾ vermögen sogar Rauschbrandbazillen mit den langsam wachsenden Tuberkelbazillen und Strahlenpilzen zusammen sich an der Oberfläche der Bouillon zu entwickeln. Kedrowsky wies ferner nach, daß vorsichtig — durch Chloroform — abgetötete Aëroben-Leiber eine ähnliche Wirkung auf die Anaëroben ausüben wie lebende und schloß daraus auf das Vorhandensein eines die Anaëroben begünstigenden Ferments. Die Versuche von Scholtz und von v. Oettingen³⁾ zeigten aber, daß, wenn ein solches etwa ge-

1) Zeitschr. f. Hyg. 20, 1895.

2) Ebenda 27, 1898.

3) Ebenda 43, 1903.

bildet wird, es jedenfalls nicht löslich und filtrierbar ist. Betrachten wir die lebenden oder toten Leiber der aëroben Bakterien als reduzierende Fremdkörper (§ 161), so haben wir wohl eine genügende Erklärung.

In dem Falle von *Bienstock*¹⁾, der Anaëroben in einer durch *Kochen* abgetöteten Kultur des *Pyocyaneus* zum Wachstum kommen sah, spielt wahrscheinlich außerdem noch das Fibrin eine Rolle, das der Kultur als Nährstoff zugesetzt worden war.

Schwieriger zu deuten sind die Beobachtungen *R. Müllers* an dem früher (S. 101) erwähnten *Bazillus* der Geflügeldiphtherie. Er fand nämlich, daß dieser auch aërob (auf Platten) wuchs, wenn ihm Blut, Serum, Milch oder rote Blutkörper als Nahrung geboten wurden. Man könnte daran denken, daß hier die Verbesserung des Nährbodens das Hemmnis überwinden hülfe, das durch den Sauerstoffzutritt geschaffen würde, wenn nicht das Verhalten der Reagenzglas-Schüttel-Kulturen in Serumagar, bei dem ja das aërobe Wachstum ausbleiben soll, dagegen spräche. Bemerkenswert ist auch in Hinblick auf die negativen Erfolge *Scholtz'* und *Oettingens* die Angabe, daß das keimfreie Filtrat einer *Sarcine* das Gedeihen des *Bazillus* ebenso befördere wie die lebende *Sarcine*.

Auf die bessere Ernährung ist wohl zurückzuführen, daß nach *Omeliansky*²⁾ das *Bac. formicicum* ameisensaure Salze unter streng anaëroben Bedingungen nur dann vergärt, wenn sie ihm in Bouillon, nicht wenn sie in mineralischer Lösung zur Verfügung stehen, während die Gärung auch in letzterer Lösung bei Sauerstoffzutritt erfolgt. Die Begünstigung, die das anaërobe Wachstum vieler Bakterien durch Zucker erfährt, beruht wahrscheinlich auch nicht bloß auf dessen reduzierenden Fähigkeit, sondern auf seiner Eigenschaft als guter Nährstoff und geeigneter Gegenstand für das Gärvermögen der Bakterien. Früher hat man die Begünstigung des anaëroben Wachstums durch vergärbare Stoffe so aufgefaßt, daß diese den Sauerstoff liefern sollten für die Atmung, die sonst mit Hilfe des atmosphärischen Sauerstoffs erfolgte. Zugunsten der energetischen Auffassung hat man diesen Gedanken jetzt wohl allgemein fallen lassen und hält ihn nur bei denjenigen „Gärungen“ noch aufrecht, die Salpetersäure (§ 198) und Schwefelsäure (§ 212) betreffen. Diese sauerstoffreichen Körper sind allerdings nachweislich imstande, den zur Oxydation der Nährstoffe (z. B. Zucker) nötigen Sauerstoff abzugeben und somit den Sauerstoff der Luft vollständig zu ersetzen, d. h. das anaërobe

1) *Annal. Pasteur* 1903, 12.

2) *Zentr. Bakt.* 2. Abt., 11. 177, 1903.

Dasein zu ermöglichen. Merkwürdigerweise haben aber einige dieser Organismen sich so vollständig an diese mittelbare Art der Oxydation angepaßt, daß sie geradezu unfähig geworden sind, sich freien Sauerstoffs zu bedienen, also in diesem Sinne zu strengen Anaëroben geworden sind. Auf die näheren Verhältnisse der Ausnutzung des an Salpeter-, salpetrige und Schwefelsäure gebundenen Sauerstoffes gehen wir später ein. Andere Peroxyde, wie z. B. Wasserstoffsuperoxyd, werden anscheinend nicht dem Stoffwechsel dienstbar gemacht, sondern nur unter Entbindung von Sauerstoff zersetzt (§ 160).

Über die durch die Anaërobiose und Gärung bei manchen Mikroben gesetzten Gestaltsveränderungen s. Buttersäuregärung § 113 ff. und § 130.

§ 32. Der Stickstoffbedarf¹⁾. Daß Mikroorganismen ohne Stickstoff gedeihen können, ist bisher nur von F e r m i ²⁾ behauptet worden. Es soll Schimmel- und Hefepilze geben, die auf N-freien Nährböden leben und selbst N-frei bleiben! Im allgemeinen nimmt man an, daß organische Substanzen nicht ohne Eiweiß, und Eiweiß nicht ohne Stickstoff denkbar ist. Der Stickstoff kann freilich gerade bei den Mikroorganismen in sehr verschiedener Form und Menge geliefert werden.

a. Höchst verwickelt gebaute Stickstoffverbindungen, also Proteinstoffe, verlangen bekanntlich — mit vorläufig noch zweifelhaften Ausnahmen — die Tiere zur Nahrung. Es gibt auch unter den kleinsten Lebewesen, besonders unter den parasitischen, solche, die ebenfalls darauf angewiesen sind. So wachsen Influenzabazillen am besten auf Hämoglobin und sonst allenfalls noch auf Sperma, Blutserum, Bakterienleibern, Gono- und Meningokokken auf Menschenblutserum und nur kümmerlich auf anderen Serumarten oder Albumosen, ebenso Schanker-, Keuchhustenbazillen und Trypanosomen nur auf Blutnährböden, die Spirillen des Rückfallfiebers anscheinend nur in lebendem Blut, andere strenge („obligate“) Parasiten nur in diesem oder jenem lebenden Organ bestimmter Tiere. Allerdings dürfen wir uns nicht allzu bestimmt darüber äußern, ob ein Mikroorganismus zu dieser Gruppe gehört, weil wir vor Überraschungen nicht sicher sind. Noch ist es nicht gar so lange her, daß man gelernt hat, die Tuberkelbazillen, die früher als Typus der anspruchsvollen Bakterien erschienen, auf Nährböden zu züchten, die eiweißfrei sind, ja, den Stickstoff nur in Form von Ammoniaksalzen (P r o s k a u e r und B e c k) zu enthalten brauchen. Außerdem sind die Ursachen der Vorliebe der Parasiten auf

1) Litt. s. o. § 29 und bei B e n e c k e in L a f a r s Handb. 1, 383, 1905.

2) Zentralbl. Bakt. 2. Abt., 2. 550.

bestimmte Organe und Organstoffe noch keineswegs durchsichtig. Sie brauchten gar nicht in der für die Assimilation besonders geeigneten Beschaffenheit gewisser spezifischer Eiweißstoffe zu liegen, sondern könnten beruhen in dem Fehlen wachstumshemmender oder umgekehrt in dem Vorhandensein wachstumsbefördernder Stoffe, also von Gift- oder Reizstoffen unbekannten Baus. Auf deren Bedeutung für die Ernährung in verwickelt zusammengesetzten Nährböden und besonders für das parasitische Dasein kommen wir später zurück (§ 55).

b. Der Kreis derjenigen Mikroorganismen¹⁾, die zwar auch von weniger verwickelten Stickstoffverbindungen, Aminosäuren, Säureamiden, Ammoniaksalzen der organischen Säuren, Nitraten usw. leben, aber ebenso gut oder auch besser auf Eiweißstoffen, insbesondere den leicht diffusiblen Albumosen und Peptonen gedeihen, ist ein sehr weiter. Er umfaßt wohl die große Mehrzahl sämtlicher Bakterien und Pilze, einschließlich der Hefepilze.

Manche Mikroorganismen assimilieren umgekehrt den Stickstoff besser aus einfachen Verbindungen, als aus Peptonen und echten Eiweißkörpern oder lassen diese letzteren überhaupt unberührt. So kann nach Beijerinck der *Saccharomyces Mycoderma* und nach Wehmer der *Aspergillus niger* mit Ammonsalzen (und mit Harnstoff) besser ernährt werden als mit Amiden oder Peptonen. Bemerkenswert ist aber, daß die meisten dieser Gruppe angehörigen Mikroorganismen, wenn sie auch eine gewisse Vorliebe für diese oder jene Substanz haben, doch imstande sind, ihren Stickstoffbedarf aus den einfachsten wie den verwickeltsten Verbindungen zu entnehmen. Die einfachsten sind die

1) Man kann die Angehörigen dieser Gruppe mit A. Fischer (Vorlesungen über Bakterien) den unter a genannten und den unter c zu erwähnenden „monotropen“ als „polytrophe“ gegenüberstellen. Die Parasiten bezeichnet Fischer als „paratrophe“, die Stickstoff (oder andere Elemente) assimilierenden als „prototrophe“, die auf Verbindungen angewiesenen als „metatrophe“. Die letzteren zerfielen dann wieder, je nachdem sie sich von anorganischen oder organischen Verbindungen nähren, in „autotrophe“ und „heterotrophe“ (Pfeffer). Ebenso könnte man mit Beijerinck u. a. Ammon-, Amid-, Pepton-, Eiweißmikroben unterscheiden, und je nachdem die Ernährung auf eine Art von Stoffen beschränkt ist oder nicht, von obligaten oder fakultativen Ammon- usw. Mikroben sprechen. Außer den unter a und c genannten ist aber eine solche Beschränkung kaum sicher nachgewiesen, sondern es handelt sich immer um eine mehr oder weniger große Vorliebe für die eine oder andere Art. Vielfach ist die Vorliebe bei den einzelnen Stämmen einer und derselben Art ungleich entwickelt. So konnte Kirstein (Zeitschr. f. Hyg. 46. 254) Typhusbazillen nur zum Teil in Asparaginagar züchten. Die Möglichkeit der Anpassung an ungünstige Nährböden ist durch zahlreiche Erfahrungen bewiesen (Kap. XVIII).

Ammoniaksalze der anorganischen Säuren und die Nitrate. Beide Arten von Salzen genügen den Schimmelpilzen (N ä g e l i) und Bakterien (M a a s s e n, B i e r e m a), die Ammoniaksalze sagen den Hefepilzen¹⁾ viel besser zu als die Nitrate, wenn auch diese nicht ganz unbrauchbar sind (L a u r e n t). Die Verwendung der letzteren im Stoffwechsel ist allerdings eine wechselnde, wir werden darüber in einem besonderen Abschnitt handeln (§ 197 ff).

Nitrite wirken als Gifte in saurer Lösung, werden aber in alkalischer Lösung meist assimiliert (N ä g e l i, M a a s s e n, L a u r e n t).

Von den Ammoniaksalzen kommen in erster Linie in Betracht die der anorganischen Säuren. Ihre Eignung ist je nach der Art des Mikroorganismus verschieden. So kann z. B. der Tuberkelbazillus nach P r o s k a u e r und B e c k das salzsaure oder kohlensaure Ammon außer dem schwefel- und salpetersauren verwenden, der Aspergillus niger nach C z a p e k nur die beiden letzteren. Ähnlich widersprechende Befunde wurden übrigens für eine große Anzahl anderer stickstoff- und kohlenstoffhaltiger Verbindungen gemacht; offenbar ist es nicht angängig, die Ergebnisse, die bei der Ernährung eines Mikroorganismus erhalten werden, auf andere Arten zu übertragen. Unter dieser Einschränkung müssen daher die Resultate der sehr ausgedehnten Untersuchungen C z a p e k s²⁾ über die Stickstoffernährung des Aspergillus niger, über die wir unter Übergehung einiger älterer Arbeiten hier in Kürze berichten, betrachtet werden. Es fand sich, daß die Ammonsalze der Essigsäurereihe gänzlich ungeeignet, die der Milchsäure- und Oxalsäurereihe dagegen ebenso wie die der weiter hydroxylierten Säuren (Apfel-, Wein-, Zitronensäure) vorzüglich geeignet waren. Von den Säureamiden gestattete Formamid kein Wachstum (wohl bei Bakterien, B i e r e m a), Acetamid erwies sich als sehr brauchbar, Propionamid schon weniger und Butylamid gar nicht. Die Amide der Milch- und Bernsteinsäure sind wieder gute Nährstoffe, ganz besonders das Amid der Aminobernsteinsäure (Asparagin). Schlechte Stickstoffquellen sind samt und sonders die Säurenitrile von der Blausäure an (vgl. N ä g e l i), desgleichen die

1) Nach P r i n g s h e i m soll die Hefe außer Ammoniak nur solche N-Verbindungen brauchen, die, wie F i s c h e r s Peptide, die Gruppe—CO—NH—CH= enthalten.

2) Eine willkommene Ergänzung dazu bieten namentlich die Anreicherungsversuche B i e r e m a s, die sich auf Pilze und Bakterien erstrecken.

Cyanverbindungen¹⁾ mit Ausnahme des Rhodannatriums. Als durchgängig sehr gute Nährstoffe kennt man seit langem die Aminosäuren²⁾. Auch deren Substitutionsprodukte Methylglykokoll ((Sarkosin), Trimethylglykokoll (Betain), Benzoylglykokoll (Hippursäure), Oxyphenylalanin (Tyrosin)³⁾ und selbst die Aminoäthylsulfosäure (Taurin) werden von dem Aspergillus und manchen Bakterien (Bierema) mehr oder weniger vollständig ausgenutzt, während sie meist ungeeignet sind für den Tuberkelbazillus. Gute Stickstoffnahrung bieten sowohl primäre als sekundäre oder tertiäre Amine, doch zeigen, wie auch sonst so häufig, isomere Verbindungen beträchtliche Unterschiede. Ganz vorzüglich wirken namentlich Glukosamin und Cholin. Das Verhalten der Endprodukte des tierischen Stoffwechsels, des Harnstoffs usw. ist besonders interessant. Für Aspergillus niger ist der Harnstoff eine leidliche Stickstoffquelle, weniger für Bierhefe (Mayer³⁾), eine gute aber wieder für Kahlhefe und viele Bakterien, keine ausreichende für Tuberkelbazillen. Die Abkömmlinge des Harnstoffs verhalten sich verschieden, der Methylharnstoff wird vom Aspergillus schlecht, der asymmetrische Dimethylharnstoff gut assimiliert, ebenso Biuret, ferner auch Harnsäure, Alloxan, Alloxantin, Parabansäure, Allantoin, Hydantoin, Guanidin, schlecht dagegen Kreatin und Koffein. Für die Tuberkelbazillen eignet sich von diesen Substanzen nur Biuret. Harnsäure und Hippursäure wird auch von Bakterien ausgenutzt (Salzmann, Bierema,) ebenso Kreatin (Vandervelde⁴⁾), Kreatinin (Brieger⁵⁾), anscheinend sehr schlecht Koffein und gar nicht Theobromin (Reinke).

Von den aromatischen Körpern wurden schon einige Verbindungen mit Fettsäuren als gute Stickstoffquellen bezeichnet, dasselbe läßt sich sagen von den Ammoniaksalzen der Salicylsäure, Gallussäure, Zimmtsäure, Chinasäure, auch noch von der m- und p-Oxybenzoesäure und Phthalsäure. Das hydrozimmtsäure Ammon ist

1) Auch die Zersetzung des Kalkstickstoffs erfolgt zunächst wesentlich ohne Hilfe von Bakterien. Erst wenn sich durch chemisch-physikalische Einflüsse aus den Cyanverbindungen Harnstoff gebildet hat, greifen Harnstoffbakterien ein (§ 194).

2) Tyrosin soll nach Emmerling nur durch Verunreinigungen nähren. Bei ihm und bei Löw (Hofmeisters Beitr. 4) noch andere Angaben über Aminosäuren und Kritik der Czapek'schen Bemerkungen über die Bedeutung der Konstitution für die Nährfähigkeit. Galimard, Lacomme und Morel (Compt. rend. ac. sc. 143. 349, 1906) finden für Bakterien (Pyocyaneus) alle Amino- und Diaminosäuren geeignet.

3) Gärungschemie S. 134.

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. 8.

5) Ibidem 9.

dagegen fast, das benzoesaure völlig unbrauchbar. Die o-, p- und m-Aminophenole zeigen ganz verschiedene Nährkraft, Anilin und Dimethylanilin sind mäßig geeignet, Methylanilin gar nicht. Die Nitroverbindungen, Pikrin- und Nitrobenzoesäure sind Gifte. Die für Tiere so giftigen Alkaloide z. B. Nikotin, sind dagegen für Bakterien und Pilze Nährstoffe.

Nukleinsäure eignet sich nach Iwanow für Pilze ebenso zur Entnahme des Stickstoffs wie des Phosphors (§ 30). Jedoch muß auffallenderweise Kohlenstoff noch in anderer Form zugeführt werden, während das bei den Bakterien nicht nötig zu sein scheint. Nur bestimmte Bakterien, wie der *Bac. chitinovorus* — und wohl auch einige Hautschmarotzer unter den Pilzen — vermögen das Chitin und Keratin auszunutzen (Benecke¹⁾).

Von anderen schwer zersetzlichen Körpern seien noch die Humusstoffe genannt, die in der Natur ja sehr verbreitet sind und regelmäßig eine geringe Menge Stickstoff enthalten. Wie Reinitzer²⁾ und Nikitinsky³⁾ an rein dargestellten Humusstoffen festgelegt haben, kann dieser von Pilzen und Bakterien assimiliert werden, doch ist es noch nicht ganz sicher ausgemacht, ob nur der Ammon- oder auch der Amidstickstoff der Humussäure aufgenommen wird.

c. Eine besondere Stellung unter den Mikroorganismen nehmen die Salpeterbakterien oder Mikroorganismen der Nitrifikation ein, die ihren Stickstoff ausschließlich der salpetrigen Säure oder dem Ammoniak entnehmen und, wie wir gleich sehen werden (§ 33), als Kohlenstoffquelle nur die Kohlensäure selbst brauchen können, insofern also den chlorophyllführenden Pflanzen verwandt sind. Sie sind aber in ihrer Ernährung weit mehr beschränkt, als letztere, weil es gelingt, die Pflanzen auch mit verwickelt gebauten Stickstoffverbindungen zu erhalten, und verdienen also ganz besonders den Namen von „monotrophen“ Organismen.

d. Fast noch erstaunlicher war die Entdeckung, daß es Mikroorganismen gibt, die freien Stickstoff assimilieren können. An die Möglichkeit einer nutzbringenden Verwertung derselben durch Pflanzen hatte man zwar schon früher gedacht, aber erst ein praktischer Landwirt, Schultz-Lupitz, hat 1881 den Anstoß zu einer erneuten wissenschaftlichen Bearbeitung der Frage gegeben, indem er auf die Anreicherung des Stickstoffs im Boden durch die Anpflanzung von Leguminosen hinwies. Den Grund dafür fand Hellriegel in

1) Botan. Zeit. 1905.

2) Botanische Zeitg. 1900.

3) Jahrb. wiss. Bot. 37, 1902.

der Assimilation des freien Luftstickstoffes durch die sogenannten *Bakteroiden*, die sich in den Wurzelknöllchen der Pflanzen finden. Der weitere Gang der Dinge (§ 201)) hat diesem Forscher vollständig Recht gegeben. Es gelingt ohne Mühe, den *Bac. radicola* (Beijerinck) zu isolieren, durch Impfung sterilisierter Erde mit seinen Reinkulturen die Entwicklung der Wurzelknöllchen mit den charakteristischen Bakteroiden hervorzurufen und durch sie das Wachstum der Leguminosenpflanzung auf stickstofffreiem Boden zu ermöglichen. Nicht ganz sicher ist es, ob es auch unter den Schwefel- und Wasserstoffbakterien, die wie die Nitrobakterien die Fähigkeit besitzen, Kohlensäure zu assimilieren (§ 33), solche gibt, die ausschließlich auf anorganische Stickstoffverbindungen angewiesen sind. Es scheint nur festgestellt, daß ihr Stickstoffbedarf aus Ammoniak und Nitraten gedeckt werden kann.

Außer den Bakterien der Wurzelknöllchen und den ihnen vielleicht an die Seite zu stellenden *Wurzepilzen* (*Mykorrhizen* § 202) gibt es im Erdboden auch noch andere, die zur Assimilation des freien Stickstoffs fähig sind. Dahin gehört vor allem *Clostridium Pastorianum* Winogradsky und *Azotobacter Chroococcum* Beijerinck, die sogar in völlig N-freien Nährböden gezüchtet werden können und teilweise recht bedeutende Stickstoffmengen der Luft entnehmen. Wahrscheinlich ist übrigens die Fähigkeit Stickstoff zu assimilieren, noch viel weiter verbreitet unter den Klebewesen (§ 203) und kommt auch höheren Wesen zu. Auf die näheren Bedingungen der Stickstoffassimilation kommen wir später zurück.

e. Nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ ist der Stickstoffbedarf der einzelnen Mikroben sehr verschieden. Manche wachsen schon in ganz verdünnter Nährlösung und werden durch stärkere Konzentration geradezu geschädigt. Wir kommen bei der Besprechung des Einflusses der Dichtigkeit der Nährstoffe darauf zurück (§ 40), machen aber der methodischen Wichtigkeit wegen hier schon darauf aufmerksam.

Überraschend wenig Stickstoff scheinen zu ihrer Ernährung Bakterien zu bedürfen, die Beijerinck und van Delden¹⁾ unter dem Namen des *Bac. oligocarophilus* beschreiben. Sie brauchen außer Kalium-, Magnesiumsalzen und Phosphorsäure nur kleinste Mengen von Nitraten, Nitriten und Ammoniaksalzen und gedeihen sogar im Notfall, wenn ihnen nur Spuren von Stickstoff durch die organischen Verunreinigungen der Luft zugeführt werden (S. 122), bilden aber doch — ungleich den Wasserbakterien, die zwar auch in

1) Zentrbl. Bakt. II. Abt., 10. 2, 1903.

reinem Wasser wachsen, aber erst durch die Plattenkulturen nachweisbar werden, dem bloßen Auge sichtbare Häute auf der Lösung.

Auch Gerlach und Vogel¹⁾ sprechen von Schimmelpilzen, die gewöhnlich mit dem *Azotobacter chroococcum* (s. o.) zusammen, aber auch selbständig leben und mit den geringsten Spuren von Stickstoff auskommen. Sie sollen in ihrer Trockensubstanz weniger als 1% N enthalten. Auch nicht viel mehr Stickstoff braucht das *Bacterium xylinum* (§ 23). Durch solche Vorkommnisse mag sich allenfalls die Behauptung Fermis, mit der wir § 32 eröffnet haben, rechtfertigen lassen.

§ 33. Der Kohlenstoffbedarf²⁾. Der Kohlenstoff macht den größten Teil der organischen Substanz aus, daher können wir auch erwarten, daß der Kohlenstoffbedarf am größten ist. Das ist in der Tat der Fall. Die Art und Weise, wie er befriedigt wird, ist sehr verschieden.

a. Ob es Mikroorganismen gibt, die für ihre Kohlenstoffernährung ausschließlich auf die verwickeltsten Verbindungen, die Protein-körper angewiesen sind, also nicht imstande sind, z. B. Kohlenhydrate zu verwenden, ist nicht bekannt. Wahrscheinlich ist es nicht, wenn wir an die Verhältnisse bei den anspruchsvollsten Organismen, den höheren Tieren, denken. Es scheint aber, wie wir schon bei Gelegenheit der Stickstoffnahrung (§ 32a) gesehen haben, Mikroben zu geben, die ohne Eiweißstoffe einschl. der Peptone und Albumosen) keinesfalls auskommen, und die im Notfall jede andere Kohlenstoffverbindung entbehren können. Wir sagen im Notfall, denn viele Erfahrungen weisen darauf hin, daß eine Zugabe, sei es nun von Kohlenhydraten oder Glycerin u. a. m. zu den Eiweißstoffen das Wachstum verbessert. In den natürlichen Nährböden fehlen solche Stoffe ja ohnehin so gut wie niemals.

b. Gehen wir zu dem weit größeren Kreise von Mikroorganismen über, die auch ohne Eiweiß leben können, so hätten wir für jede Spezies eine Stufenleiter der Stoffe zu bilden, je nach ihrer Eignung zur Kohlenstoffernährung. Auch hier stehen zwar für viele wieder die Eiweißstoffe, insbesondere die leicht diffusiblen Peptone bzw. Albumosen, obenan. Sie können im allgemeinen sowohl als Stickstoff- wie als Kohlenstoffquelle dienen; doch soll es Bakterien (z. B. *Bac. Stutzeri* und *Hartlebi* nach Salzmänn) geben, die Pepton („aus Eiweiß“ von Merck) zwar als Stickstoff-, aber nicht zugleich als Kohlenstoffnahrung benutzen können. Möglich ist es freilich, daß das nur an dem Peptonpräparat gelegen hat, denn auffällig bleibt es doch,

1) Ebenda 10. 20/22.

2) Lit. § 29 und bei Benecke a. a. O. (§ 32).

daß schon eine so schlechte Kohlenstoffquelle, wie Harnstoff es ist, (s. u.) nach S a l z m a n n als Zugabe zu dem Pepton genügte, um das Wachstum zu gestatten.

Den Eiweißstoffen stehen am nächsten die Z u c k e r a r t e n. Sie sind sogar für nicht wenige Mikroorganismen bei Vorhandensein einer anderen guten Stickstoffquelle dem Pepton gleichwertig oder überlegen. In erster Linie sind es die H e x o s e n, und unter ihnen wieder der Traubenzucker, die den meisten Ansprüchen genügen; ihnen schließen sich unmittelbar die Disaccharide, Maltose und Saccharose, an. Am wenigsten geeignet von allen Zuckern erweist sich der M i l c h z u c k e r. Die Pentosen und Tetrosen stehen den Hexosen im allgemeinen weit nach. Worauf die eigentümlichen Unterschiede der Nährfähigkeit so nahe verwandter und häufig isomerer Stoffe beruhen, werden wir bei Gelegenheit der Zuckerzersetzung (Kap. VI) ausführlich zu erörtern haben. Sehr nahe kommen den Zuckern in ihrer Nährfähigkeit die sechswertigen Alkohole, die sich nur durch ein Mehr von 2 Wasserstoffatomen unterscheiden, insbesondere M a n n i t, ferner die zugehörigen Säuren (Schleimsäure, Zuckersäure), auch der dreiwertige Alkohol, das G l y z e r i n. Dieser letztere Stoff übertrifft sogar alle übrigen weit bei der Ernährung des Tuberkelbazillus, so daß wir ihn auf den künstlichen Nährböden kaum entbehren können (P r o s k a u e r und B e c k). Gute Kohlenstoffquellen sind auch noch die Aminosäuren, nach N ä g e l i für Pilze insbesondere das Leucin, nach C z a p e k das Alanin, nach U s c h i n s k y ¹⁾, C. F r ä n k e l ²⁾ u. a. für Bakterien das Amid der Asparaginsäure, das Asparagin. E m m e r l i n g konnte nachweisen, daß die v e r s c h i e d e n e n S c h i m m e l p i l z e eine spezifische Vorliebe für die einzelnen Aminosäuren haben, die jeder Regel spottet. Manche waren überhaupt nicht imstande, gleichzeitig als Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung zu dienen. Vielleicht hätte aber, wie wir es oben beim Pepton gesehen haben, schon die Zugabe einer schlechten Kohlenstoffquelle genügt, um ihre Assimilation zu ermöglichen. Andere Beispiele für eine spezifische Auswahl von Nährstoffen, insbesondere von organischen Säuren und Zuckerarten, werden wir übrigens später kennen lernen (§ 58).

Der Regel nach brauchbar sind unter den o r g a n i s c h e n S ä u r e n die Bernstein-, Äpfel-, Wein-, Zitronensäure, die Oxybutter-säure und von aromatischen Säuren die China-, Gallus- und Oxybenzoesäure, von den A m i n e n namentlich Propylamin, weniger

1) Zentralbl. Bakt. 14.

2) Hygien. Rundschau 1894.

Äthyl-, am wenigsten Methylamin, von den Säureamiden das Lactamid und Acetamid. Die Essigsäure und die Milchsäure sowie der Äthylalkohol sind schlechte Nährstoffe für die meisten Organismen, für die Kahlhefe, den Milchsimmel, die Essigbakterien, die Eurotiosis Gayoni (L a b o r d e) ganz vortreffliche.

Ein Vergleich der Nährkraft verschiedener Alkohole und Aldehyde für den *Aspergillus niger* hat Coupin¹⁾ gezeigt, daß nur der Äthylalkohol ein brauchbarer Nährstoff ist, Methylalkohol und Glykol überhaupt nicht assimiliert wird, und Amyl- und Allylalkohol ebenso wie Methyl-, Äthyl- und Benzaldehyd giftig wirken. Jedoch finden sich nach Löw²⁾ auch wieder bestimmte Organismen (*Bac. methylicus*), die nicht nur Methylalkohol, sondern auch Formaldehyd und Ameisensäure assimilieren.

Höhere Fettsäuren und ihre Glyzeride, die Fette, werden von Bakterien ziemlich schlecht, von Schimmelpilzen und Hefen gut assimiliert (Rubner³⁾, Schreiber⁴⁾, Spieckermann und Bremer⁵⁾ u. a.⁶⁾; R. B. Schmidt⁷⁾ konnte zeigen, daß *Aspergillus niger* mit Mandelöl als einziger Kohlenstoffquelle ganz vorzüglich gedieh, und Wehmer hat sogar bei der Ernährung dieses Pilzes mit Olivenöl größere Pilzernten als mit jeder anderen Nahrung erhalten.

Die den Fetten nahestehenden Kohlenwasserstoffe sind viel weniger zur Lieferung von Kohlenstoff geeignet, doch gelang es Ra hn⁸⁾, einen Schimmelpilz zu finden, der imstande war, sich ausschließlich von Paraffin und Ammoniak zu ernähren. Selbst für die gasförmigen Kohlenwasserstoffe scheint ähnliches zu gelten, mit Erfolg untersucht ist freilich bisher nur das Sumpfgas. Nach Sö h n g e n⁹⁾ und K a s e r e r¹⁰⁾ dient es als alleinige Kohlenstoffquelle in einer mineralischen Lösung für den *Bac. methanicus*. Letzterer Forscher¹¹⁾ glaubt auch, daß Kohlenoxyd von einem anderen Bakterium, das er mit dem *Bac. oligocarbophilus* Beijerincks (s. u. S. 122) identifiziert, ebenso ausgenutzt, und daß das Kohlenoxyd durch zwei andere Gase, den Wasserstoff als Kraftquelle und

1) Compt. rend. ac. sc. 138. 389, 1904.

2) Zentrbl. Bakt. 12, 1892.

3) Arch. Hyg. 38.

4) Ebenda 41.

5) Landwirtsch. Jahrb. 1902.

6) Weitere Litt. vergl. § 137 u. 149.

7) Flora 91.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt., 16. 382, 1906.

9) Ebenda 15. 513, 1906.

10) Ebenda 15. 573.

11) Vgl. auch ebenda 16. 769.

und die **K o h l e n s ä u r e** als Kohlenstoffquelle ersetzt werden könne. Während dieser Mikrobe als autotroph zu bezeichnen sei, begnüge sich eine zweite Art, der *Bac. pantotrophus* zwar bei Fehlen anderer Nahrung mit Wasserstoff und Kohlensäure, könne sich aber auch mit **F o r m a l - d e h y d** und höheren organischen Verbindungen ernähren. **N i k l e w s - k i**¹⁾ leugnet die Assimilation des Kohlenoxyds und die Identität des *Bac. oligocarbophilus* mit dem von ihm selbst gefundenen, weit verbreiteten Wasserstoff und Kohlensäure assimilierenden Bakterium, hält es übrigens auch für heterotroph, ohne es aber mit dem *Bac. pantotrophus* zu identifizieren. Andererseits haben **N a b o k i c h** und **L e b e d e f f**²⁾ in sorgfältigen Versuchen festgestellt, daß in Knallgasgemischen **W a s s e r s t o f f** und Sauerstoff gleichmäßig (manchmal bis zur Entstehung eines Vakuums) verschwinden, wie es der Oxydation von Wasser entspricht, bezeichnen übrigens wieder die Bakterien als autotrophe. Offenbar sind die Verhandlungen über diese merkwürdigen Wesen noch nicht geschlossen. So hat **N i k i t i n s k y**³⁾ die Vermutung **K a s e r e r s**, daß es auch eine Ausnutzung des Wasserstoffs durch Bakterien unter **a n a ä r o b e n** Bedingungen gebe, bestätigt gefunden. Vielleicht wird hier der zur Oxydation nötige Sauerstoff durch Sulfate (§ 212) geliefert.

Wenn wir viele Stoffe noch nicht genannt haben, so folgt daraus nicht, daß sie keine oder schlechte Kohlenstoffquellen darstellen. Die systematischen Prüfungen auf Nährfähigkeit haben sich ja bisher nur auf verhältnismäßig wenige Arten beschränkt, und doch haben sie schon jetzt gezeigt, daß Stoffe, die für den einen Mikroben nicht assimilierbar sind, es für den anderen ganz gut sein können. So hielt **N ä g e l i** Harnstoff, Ameisensäure und Oxalsäure, Oxamid, Äthylamin, Trimethylamin für ungeeignet zur Kohlenstoffernährung. Von den Aminen wurde oben schon gesprochen, für Ameisensäure oder vielmehr deren Salze ist das Gegenteil bewiesen durch **D i a k o n o w**⁴⁾ am *Penicillium* und durch **L ö w** am *Bac. methylicus* (s. o.). Auch Oxalsäure kann nach **W e h m e r**⁵⁾ Pilzen und Bakterien als ausschließliche Kohlenstoffnahrung dienen. Harnstoff soll Pilzen (**D i a k o n o w**) und einzelnen Bakterien (*Bac. Stutzeri* und *Hartlebi* **S a l z m a n n**) den nötigen Kohlenstoff bieten können, wenn er auch gewöhnlich nur als Stickstoffquelle (§ 32) dient. Jedenfalls ernähren die dem Harnstoff

1) Zentrbl. Bakt. 2. Abt., 20. 469, 1908.

2) Ebenda 17. 350.

3) Ebenda 19. 495.

4) Ber. bot. Gesellsch. 1887, 385.

5) Bot. Zeitg. 1894, 324.

seinem Bau nach verwandte Parabansäure und Demethyloxamid ebenfalls Schimmelpilze (Reinke). Ferner haben manche Erfahrungen gelehrt, daß Stoffe, die als alleinige Kohlenstoffquelle für die Ernährung nicht verwendbar sind, es werden, wenn sie mit anderen zusammenwirken. Das ist ein Vorteil unserer zusammengesetzten Nährböden. So sind z. B. nach Proskauer und Beck Traubenzucker, Rohrzucker, Malzzucker, Raffinose und Milchzucker allein nicht imstande, die Tuberkelbazillen zu ernähren, verbessern aber das Wachstum bedeutend, wenn sie mit Glyzerin zusammen gegeben werden. Die Ameisensäure und andere Säuren werden in Peptonnährlösungen von vielen Bakterien angegriffen, die sie allein nicht verwerten können (Maassen). So vergärt auch das *Bact. formicicum* Omeliansky's ameisensaures Salz nur bei Peptongegenwart (§ 140). In anderen Fällen kann von Nährfähigkeit keine Rede sein, wenn man die betreffenden Stoffe in Konzentrationen anwendet, die giftig sind; verdünnt man sie aber genügend, so werden sie Nährstoffe, z. B. Karbolsäure nach Nägeli. Die Reaktion des Nährbodens spielt ebenfalls häufig eine Rolle. So sind freie Buttersäure und Baldriansäure nach Stutzer giftig, werden aber in Gestalt von Salzen assimiliert. Umgekehrt hat man Stoffe als assimilierbar betrachtet, die selbst unangreifbar, die aber gewöhnlich mit nährfähigen Stoffen verunreinigt sind. Dazu gehören die Humusstoffe nach Reinitzer und Nikitinsky (s. o. S. 112). Doch hat der letztere Forscher selbst festgestellt, daß die Oxydation dieser Substanzen, die schon ohne Beteiligung von Mikroorganismen durch den Sauerstoff der Luft erfolgt, beschleunigt wird durch die Anwesenheit der letzteren. Eine, wenn auch sehr langsame Assimilation des Kohlenstoffes der Humussäuren könnte wohl die Ursache sein. Um so mehr ist das wahrscheinlich, als die Mikroorganismen ja auch imstande sind, den Stickstoff der Humussubstanzen zu ihrer Ernährung zu benutzen, durch dessen Entziehung also wohl diese Verbindungen lockerer und angreifbarer gemacht werden. Klar sind die Verhältnisse freilich noch nicht. Ob die Angreifbarkeit des reinen Kohlenstoffes (in Holzkohle, Lampenruß, Kohle und Torf), die Potter¹⁾ beobachtet hat, zu Recht besteht oder durch Verunreinigungen vorgetäuscht wird, muss unentschieden bleiben.

Wenn wir die Befriedigung des Stickstoff- und Kohlenstoffbedürfnisses, die sich ja nur künstlich trennen lassen, noch einmal im Zu-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt., 21. 647, 1908.

sammenhang betrachten, so kann man in Anlehnung an Nägeli und Czapek etwa folgende Stufenleiter für die Nährfähigkeit der organischen Stoffe aufstellen: 1. Die günstigsten Ernährungsbedingungen gewährt die Vereinigung von Eiweiß (Pepton) mit Zucker, 2. folgt die Mischung von Aminosäuren mit Zucker, 3. von Ammonsalzen der übrigen organischen und anorganischen Säuren oder salpetersauren Salzen mit Zucker. 4. Eiweiß oder Pepton allein. 5. Aminosäuren. 6. Ammonsalze der Oxyssäuren und Säureamide. 7. Ammonsalze der Fettsäuren. Es braucht kaum hinzugefügt zu werden, daß diese Reihenfolge nur einen ungefähren Anhaltspunkt für die Zusammensetzung der Nahrung gewähren soll. Entscheidend ist in letzter Linie das spezifische Bedürfnis der Mikroorganismen. Auf die Vorteile zusammengesetzter Nährlösungen haben wir eben schon hingewiesen, sie sind erfahrungsgemäß besonders groß in den deshalb so oft benutzten sog. natürlichen Nährböden aus dem Pflanzen- und Tierreich, zum Teil vielleicht, weil hier zu der geeigneten Nahrungsmischung noch Reizstoffe hinzutreten (§ 55).

Man könnte denken, daß die Unlöslichkeit mancher Stoffe in Wasser ihre Verwendbarkeit zur Ernährung ausschliesse, indessen ermahnen uns die neueren Erfahrungen über die Assimilation der Kohlenwasserstoffe (s. o.) auch in dieser Hinsicht zur Vorsicht. Andere an sich unlösliche oder schwer diffundierbare Verbindungen werden angreifbar dadurch, daß sie von den Mikroorganismen erst durch gewisse Ausscheidungsprodukte (Enzyme) gelöst werden, so wird Zellulose und Stärke verflüssigt, Dextrin und Glykogen verzuckert, Eiweiß peptonisiert, Fett verseift (Kap. VI ff). Selbst im allgemeinen so widerstandsfähige Pflanzenschleime wie Agar-Agar werden von einzelnen Arten angegriffen (§ 73).

Man hat sich viele Mühe gegeben, aus der chemischen Konstitution und neuerdings aus den chemisch-physikalischen Eigenschaften die Nährfähigkeit der organischen Verbindungen zu erklären. So stellten schon Stutzer, Nägeli und Reinke, ferner Löw (Zentrbl. Bakt. 9 und 12) sowie zuletzt noch Czapek Regeln dafür auf. Nach Stutzer ernährt die Carboxylgruppe nicht, sind carboxylierte und hydroxylierte Kohlenwasserstoffe sämtlich brauchbar. Nach Nägeli kann der Kohlenstoff nicht assimiliert werden, wenn er nicht unmittelbar am H hängt, sondern an einem anderen Elemente, wie im Cyan, dem Harnstoff, in der Oxalsäure; assimilierbare Kohlenstoffverbindungen müssen die Gruppe CH_2 oder CH enthalten, die CH -Gruppe ernährt aber nur dann, wenn zwei oder mehrere C-Atome, an denen H hängt, unmittelbar mit einander verbunden sind. Nach Löw nimmt der Nährwert der Fettsäuren mit steigendem C-Gehalt ab, mit neu eintretenden Amido- oder Hydroxylgruppen zu; mehrwertige

Alkohole haben höheren Nährwert als die entsprechenden einwertigen; in Substitutionsprodukten verringert Anhäufung von Methylgruppen an Stelle von H-Atomen sehr den Nährwert. Nach Salzmann sind zwei-basische Fett- und deren Oxysäuren von der Oxalsäure aufwärts Nährstoffe für *Actinomyces odorifera*, einbasische nicht. Das gleiche soll für die Keimung der Hausschwammsporen gelten (R a m a n n bei M ö l l e r, Hausschwammforschungen 1. Heft 43, 1907). Solche Regeln mögen wohl für viele Fälle zu Recht bestehen, haben sich aber bei fortschreitenden Erfahrungen fast immer als nicht allgemein gültig erwiesen. Das zeigt sich auch bei dem Versuch C z a p e k s, die verschiedene Brauchbarkeit der Stickstoffquellen auf ihre mehr oder weniger große Verwandtschaft mit Aminosäuren zurückzuführen (Vgl. die Kritik von E m m e r l i n g a. a. O. und L ö w in Hofmeisters Beiträgen, 4). Daß auch die Zersetzlichkeit einer Verbindung einen Einfluß auf ihre Nährfähigkeit besitzt, kann nicht bestritten werden. Nur ist damit im einzelnen Falle gar nichts gesagt, denn für den einen Mikroorganismus — und gerade das ist der Punkt, an dem bisher alle Erklärungsversuche gescheitert sind — kann ein und derselbe Stoff leicht, für den anderen schwer oder gar nicht angreifbar sein.

c. Da wir schon bisher Mikroorganismen kennen gelernt haben, die sich mit den einfachsten Kohlenstoffverbindungen begnügen, haben wir eigentlich keinen großen Sprung zu machen, um zu denjenigen überzugehen, die unter Ausschluß aller organischen Verbindungen ihren Kohlenstoffbedarf allein aus der K o h l e n s ä u r e decken. Es sind zunächst dieselben, die ihren Stickstoff dem Ammoniak oder Nitrit entnehmen, die Salpeterbakterien. Daß es solche Bakterien gebe, haben bei Gelegenheit ihrer Studien über die Ursache der Nitrifikation zuerst H e r a e u s¹⁾ und H ü p p e²⁾ erkannt. H e r a e u s sah nach Einsaat von 50 g Gartenerde in eine Lösung von 1 g Ammonkarbonat auf 500 g Wasser binnen 14 Tagen eine zarte Bakterienhaut sich auf der Oberfläche entwickeln, und gleichzeitig eine starke Nitrat- und Nitritreaktion eintreten. Die Weiterimpfung auf eine Salzlösung, die neben 0,05‰ Kaliumphosphat, 0,01‰ Magnesiumsulfat, 0,05‰ Chlorcalcium noch 1‰ Ammonkarbonat enthielt, ergab nach 10 Tagen eine noch kräftigere Bakterienvegetation in Form einer dicken Haut. Die Flüssigkeit zeigte wieder dieselben Reaktionen. Damit schien der Beweis geliefert, daß chlorophyllfreie Organismen imstande seien, allein auf Kosten von Ammoniak und Kohlensäure und unter Bildung von Salpetersäure sich reichlich zu vervielfältigen. Die Reinzuchtversuche führten aber sowohl H e r a e u s wie H ü p p e nicht zu einwandfreien Resultaten. Man kann auch nicht leugnen, daß beide Forscher den Beweis für ihren Satz nicht ganz streng geliefert

1) Zeitschr. f. Hyg. 1, 226.

2) Tagebl. Naturforscherversammlung 1887, 244.

haben, insofern sie die Möglichkeit, daß Spuren organischer Substanz in ihren Lösungen vorhanden waren oder als Luftverunreinigungen ihnen zugeführt werden konnten, nicht genügend berücksichtigt haben. Daß hier die größte Vorsicht am Platze ist, werden wir gleich sehen. Die Gültigkeit des genannten Satzes ist erst durch die ausgezeichneten und methodologisch höchst wichtigen Untersuchungen Winogradsky (§ 196) über allen Zweifel erhoben worden. Auf Einzelheiten gehen wir erst später ein, hier interessiert uns nur das Resultat: nach Winogradsky gibt es zwei Gruppen von chlorophyllfreien Mikroorganismen, die Kohlensäure assimilieren und bei der Nitrifikation eine Rolle spielen, nämlich die Nitritbakterien, die Ammoniak in salpetrige Säure, und die Nitratbakterien, die salpetrige Säure in Salpetersäure überführen. Was die Herkunft der Kohlensäure angeht, so ist weder die CO_2 der Luft noch die der Monokarbonate allein assimilationsfähig, sondern sie scheint in Form von Bikarbonaten geboten werden zu müssen. Merkwürdig ist die Wirkung von gleichzeitig vorhandenen organischen Stoffen auf das Wachstum der nitrifizierenden Bakterien. Nicht nur sind sie unfähig, ihren Kohlenstoff oder Stickstoff diesen zu entnehmen, sondern sie sollen — auch bei Abwesenheit anderer Mikroorganismen — geradezu in ihrer Entwicklung gehemmt werden schon durch verhältnismäßig geringe organische Beimengungen. Die gewöhnlichen Nahrungsmittel wirken also auf diese sonderbaren Lebewesen wie Gifte. Mag das letztere auch nicht in vollem Maße zutreffen, jedenfalls haben wir in den Salpeterbakterien neue Zeugen für die eigenartige Ausgestaltung — „Spezialisierung“ — der biochemischen Vorgänge bei unserer Mikroorganismen.

Ähnliche Eigenschaften besitzen nach Nathanson und Beijerinck (§ 210) gewisse Schwefelbakterien, die Schwefel, Schwefelwasserstoff und schwach oxydierte Schwefelverbindungen zu Schwefelsäure oxydieren. Dieser Prozeß dient ihnen als Kraftquelle, um den Kohlenstoff der Kohlensäure zu assimilieren, ebenso wie die Nitrifikation den Salpeterbakterien. Auch die oben besprochenen Wasserstoffbakterien (S. 116) gehören hierher, nur ist noch zweifelhaft, ob sie die Kohlensäure nur bei Fehlen besonderer Nährstoffe assimilieren oder auch streng „autotrophe“ Wesen¹⁾ unter sich zählen. Bemerkenswert ist, daß das Wachstum der Salpeter- und übrigen Kohlensäure assimilierenden Bakterien zum Unterschied von den grünen Pflanzen nicht abhängig ist von der Belichtung, daß außerdem nicht nachgewiesen ist, daß sie die Kohlensäure unter Sauer-

1) Vgl. Anm. 1 auf S. 109. Über andere autotrophe Bakterien, die sich von Kohlenoxyd und Sumpfgas nähren, s. o. S. 116 u. 117.

stoffabscheidung spalten. Im Gegenteil ist das nach den vorliegenden Untersuchungen unwahrscheinlich. Dadurch wird ausgeschlossen, daß die Kohlensäureassimilation bei ihnen durch einen Stoff bedingt wird, der dem Chlorophyll entspricht. Dagegen gibt es grün gefärbte Bakterien, die nach Engelm ann u. a. im Lichte Kohlensäure spalten und deren Farbstoff mit dem Chlorophyll identisch sein soll (§ 252). Die früher von Engelm ann aufgestellte Ansicht, daß die sogenannten Purpurbakterien im Lichte Kohlensäure unter Sauerstoffentbindung assimilieren, wurde durch Molischs Arbeiten als unrichtig erwiesen (§ 209). Die Bedeutung des Farbstoffs und der Belichtung für diese Wesen ist noch nicht völlig klar gestellt.

d. Was oben (S. 113) von dem Stickstoffbedürfnis gesagt wurde, gilt auch von dem Kohlenstoffbedürfnis. Auch quantitativ ist es sehr ungleich und manchmal außerordentlich gering. Die sogenannten Wasserbakterien (§ 40) kommen in destilliertem Wasser und in jedem natürlichen Wasser fort, obwohl man Mühe hat, darin überhaupt noch Spuren organischer Substanz nachzuweisen. Ihre Vegetation ist freilich dem Gewichte nach sehr geringfügig. Noch anspruchsloser, aber dabei reicher an Ausbeute ist der schon wiederholt erwähnte *B. oligocarbophilus*, der nach Beijerinck und van Delden in Erde weit verbreitet ist und auf einer Minerallösung mit 0,01% Kaliumbiphosphat und 0,01—0,1% Kaliumacetat und Spuren von Magnesia, Eisen und Mangansulfat allmählich eine trockene Haut bildet. Die Kultur gelingt auch auf gut ausgelaugtem Agar oder Kieselgallerte. Die Ausbeute an Trockensubstanz betrug nach einem Jahre bis zu 500 mg auf den Liter. Der Stickstoff kann auch aus Nitriten und anorganischen Ammoniaksalzen entnommen werden — wobei keine Nitrifikation erfolgt — oder aber wie der Kohlenstoff aus organischen Verunreinigungen der Luft. Die Existenz nicht ganz unbedeutender Mengen solcher Stoffe in der Luft hat schon Karsten¹⁾ 1862 entdeckt und Henri et²⁾ bestätigt³⁾. Man müßte sich vorstellen, daß sie mit der durch den Watteverschluß hindurch diffundierenden Luft an die Kulturflüssigkeit herantraten. Jedenfalls soll die freie Kohlensäure der Luft oder die gebundene des Nährbodens nicht von dem *B. oligocarbophilus* assimiliert werden. Durch die Entdeckung der Kohlenwasserstoff, Kohlenoxyd und Wasserstoff verbrauchenden Bakterien (S. 116) hat die Frage ein anderes Gesicht bekommen. Ein

1) Poggend. Annal. 115. 343.

2) Compt. rend. ac. sc. 135, 101 und 136, 1465.

3) Nach der Reaktion dieses Körpers faßte Henri et ihn als Amid der Ameisensäure auf. Später (C. r. 138. 203) fand er 0,001—0,005% Formaldehyd in der Luft.

von den Autoren gleichzeitig gefundener Strahlenpilz (*Streptothrix*) soll ähnliche Eigenschaften haben. Weitere Mitteilungen über diese rätselhaften Organismen sind abzuwarten.

§ 34. **Zusammenfassung.** Aus unserer Darstellung ergibt sich eine solche Mannigfaltigkeit des Nahrungsbedürfnisses der Mikroorganismen, daß es fast unmöglich ist, allgemeine Regeln aufzustellen, außer etwa die, daß zur Ernährung in allen Fällen notwendig ist **K o h l e n - s t o f f**, **S t i c k s t o f f**, **W a s s e r s t o f f**, **S a u e r s t o f f**, **P h o s p h o r** und ein **M e t a l l**. Wir sehen davon ab, daß selbst die Unersetzlichkeit des Stickstoffs, Phosphors und des Metalls bestritten wird (*F e r m i*). Bezüglich des **S c h w e f e l s** sind alle Zweifel noch nicht behoben, wenn auch seine Notwendigkeit sehr wahrscheinlich ist. In vielen Fällen ist darüber nicht zu streiten, ebenso wenig wie über das Bedürfnis an den zwei Metallen Kalium und Magnesium. Es gibt aber auch Mikroorganismen, die ebensoviel Elemente zu ihrer Ernährung brauchen wie die höheren Pflanzen und Tiere, also noch einige Metalle mehr.

Gehen wir weiter auf die Form ein, in der Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff geboten werden können und müssen, so ist die Mannigfaltigkeit noch deutlicher: hier werden nur freier, da nur gebundener, dort (zu Oxydationen) überhaupt kein Sauerstoff, hier nur anorganische, dort nur organische Kohlen- und Stickstoffverbindungen gebraucht. Manche Mikroorganismen sind auf eine ganz einförmige Ernährung, auf bestimmte Stoffe, seien es nun verwickelt, seien es einfach zusammengesetzte, angewiesen, andere sind so vielseitig, daß sie imstande sind, ihren Bedarf aus den allerverschiedensten Stoffen zu decken. So lehrt uns die Forschung, daß diese äußerlich so wenig unterschiedenen, so einfach geformten Wesen, was ihr Nahrungsbedürfnis angeht, im übrigen organischen Reiche ganz unerhörte Besonderheiten zeigen.

Je weiter wir in den folgenden Kapiteln in die übrigen Ernährungsbedingungen und in die Stoffwechselvorgänge eindringen, desto mehr werden uns diese „spezifischen“ Unterschiede oder, wie man vom stammesgeschichtlichen Standpunkte (Kap. XVIII) sich auszudrücken pflegt, diese höchst eigenartigen **A n p a s s u n g e n** der Mikroorganismen zum Bewußtsein kommen.

Kapitel IV.

Weitere Bedingungen der Ernährung.

§ 35. **Aufgaben der Ernährung. Beziehungen der Nährstoffe zu bestimmten Zelleistungen.** Man kann als Aufgabe der Ernährung im weitesten Sinne des Wortes betrachten die Lieferung aller derjenigen Bedingungen, die das Leben unterhalten, d. h. alle seine Erscheinungen oder Leistungen ermöglichen. Im engeren Sinne bezeichnet der Begriff der Ernährung nur die Zufuhr der im vorigen Kapitel behandelten eigentlichen Nährstoffe von außen her. Dann muß man daneben noch von äußeren und inneren, physikalischen und chemischen Bedingungen oder Reizen für das Leben sprechen. Dazu gehören in unserem Falle einerseits Wärme, Licht, Luftdruck, Bewegung, Konzentration und Reaktion der Nahrung, Reiz- und Giftstoffe in derselben, andererseits die Fähigkeit der Kleinwesen, die Nahrungsstoffe zu ihren verschiedenen Leistungen zu benutzen, aus ihnen Auswahl zu treffen, von den Reizen und den Giften beeinflußt zu werden und sich ihrer durch Gegenwirkungen zu erwehren. In den folgenden Abschnitten wird davon die Rede sein. Hier wollen wir nur die Bedeutung der Nährstoffe für die einzelnen Leistungen der Mikroben in Kürze besprechen. Als solche Leistungen können wir unterscheiden:

1. die Unterhaltung der Zellen einschließlich ihrer Hüllen, Bewegungsorgane usw.,
2. den Aufbau neuer Zellen (das Wachstum),
3. die Bildung der Dauerzustände (Sporen), Früchte, unregelmäßigen Formen und die Auskeimung der ersteren,
4. die Aufspeicherung von Vorratsstoffen, (Fett, Stärke, Glykogen, Volutin, Schwefel),
5. die Bildung und Tätigkeit von zersetzenden und aufbauenden Enzymen (Fermenten),
6. die Bildung von Giften, Angriffs- Reiz- und Impfstoffen,
7. die Bildung von Leucht-, Farb-, Riechstoffen und anderen biologisch wichtigen Stoffwechselerzeugnissen (Säuren, Alkalien usw.).
8. die Lieferung der lebendigen Kräfte und der auslösenden Reize für die physikalischen und chemischen Leistungen (äußere und innere Bewegung, Wärme- und Lichtbildung, Stoffzersetzung und -aufbau).

Man sieht sofort, daß diese Einteilung eine etwas künstliche ist, indem z. B. Stoffersatz und -Aufbau, das Wachstum und die Tätigkeit aufbauender Fermente, die Leistung zersetzender Enzyme, die Erzeugung von Stoffwechselprodukten und die Kraftlieferung, der Aufbau der Zellen, Enzyme, Gifte, Farbstoffe usw. eng zueinander gehören. Immerhin empfiehlt sich die begriffliche Trennung, um zu einem besseren Verständnis der verwickelten Lebenserscheinungen zu kommen. Sehen wir uns die Stoffwechselleistungen allein an, so kann man einfach unterscheiden solche, die der Erhaltung und dem Aufbau, und andere, die dem Betriebe dienen. Dementsprechend werden die Nährstoffe in **B a u -** und **B e t r i e b s s t o f f e** — **p l a s t i s c h e** und **d y n a m o g e n e** — zerfallen¹⁾. Die ersteren ergänzen die Lücken, die der Stoffwechsel im Protoplasma reißt, darunter die ausgeschiedene Enzyme, Gifte, Angriffstoffe, liefern die für das Wachstum, die Dauer- und Fruchtbildungen erforderlichen Bausteine und die Vorratsstoffe, die für alle möglichen Zwecke in den Zellen aufgespeichert werden. Die Betriebsstoffe dagegen werden ohne längeren Aufenthalt in den Zellen zersetzt und liefern die Masse der der Verdauung, Gärung und Oxydation verfallenden Stoffe, deren Reste als „Exkrete“ die Zelle verlassen oder in ihr als „Konkretionen“ zurückbleiben. Indem sie der Zersetzung unterliegen, verschaffen sie der Zelle die nötige Betriebskraft, die sich messen läßt in Wärme. Man darf sich freilich nicht verhehlen, daß manches an dieser Einteilung nur Vermutung ist. So wissen wir größtenteils gar nicht, wie die Enzyme, Gifte, Angriffstoffe usw. in der Zelle entstehen, und ob sie von Anfang an eine gesonderte Existenz darin führen. Kennen wir doch schon gewöhnlich gar nicht ihre chemische Zusammensetzung. Die Schwierigkeit, mit der sie oft aus den Zellen zu gewinnen sind, spricht allerdings dafür, daß sie selbst Bestandteile („Seitenketten“) des Protoplasmas (§ 68) sind, und daß daher die Stoffe, aus denen sie entstehen, erst vorher in den Bau des Protoplasmas selbst eingehen müssen. Vielleicht ist das Verhalten der eigentlichen Betriebsstoffe auch kein anderes, vielleicht müssen sie, ehe sie dem Zerfall entgegengehen, vorübergehend in eine, wenn auch lockere Beziehung zum Protoplasma treten.

1) Pfeffer (Pflanzenphysiologie 1, 270. 2. Aufl., 1897) nennt die Baustoffe „formative“, die Betriebsstoffe „plastische“. Das scheint nicht empfehlenswert, weil plastisch nur das griechische Wort für formativ ist. Die häufige Benennung der dynamogenen Nährstoffe als „respiratorische“ oder Brennstoffe ist nicht zutreffend, weil es sich oft (immer beim anaëroben Stoffwechsel) nicht um Oxydation (Verbrennung, Atmung) handelt. Als dritte Gruppe von Nährstoffen mit Pfeffer die „aplastischen“ abzusondern, ist wohl entbehrlich. Es sollten das Körper sein, deren Produkte dem Stoffwechsel entzogen bleiben, wie Enzyme, Gifte u. a. Wir rechnen sie lieber zu den Baustoffen (s. im Text).

Ferner ist unbestreitbar, daß ein und derselbe Nährstoff, z. B. Pepton oder Zucker oder Oxalsäure, je nach dem Bedarf der Zelle und der sonstigen Zusammensetzung des Nährbodens zum Bau oder Betrieb verwandt werden kann oder verwandt wird. Ob es überhaupt Stoffe gibt, die nur plastischen oder dynamischen Zwecken dienen können, ist zweifelhaft¹⁾. Selbst der Sauerstoff ist nicht nur ein Betriebs-, sondern auch ein Baustoff. Umgekehrt sind die Nitrate und die Sulfate nicht nur als Stickstoff- und Schwefelquelle, d. h. wesentlich zum Aufbau verwendbar, sondern wie die Salpeter- und Schwefelsäure vergärenden Bakterien (§ 198 u. 212) beweisen, auch zur Lieferung von Sauerstoff für die Verbrennung der kohlenstoffhaltigen Nahrung, d. h. für den Betrieb dienlich, wobei Stickstoff und Schwefel ausgeschieden werden. Bemerkenswerte Ausnahmen von der Regel bilden ferner die Nitrifikationsorganismen (Salpeterbakterien), die ihren Kraftbedarf sogar ausschließlich durch Verbrennung von Ammoniak und salpetriger Säure decken und den zum Aufbau nötigen Kohlenstoff einer anorganischen Quelle, der Kohlensäure entnehmen (§ 196). Ähnlich machen es die Schwefelbakterien, nur dient ihnen zur Kraftgewinnung die Verbrennung des Schwefels, des Schwefelwasserstoffs und der unterschwefligen Säure zu Schwefelsäure mit Hilfe des Luftsauerstoffs (§ 208—210).

Trotz alledem hat die Unterscheidung zwischen Bau- und Betriebsstoffen nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung. Man kann im allgemeinen sagen, daß reichliche Mengen von Stickstoffverbindungen und gewisse Salze zum Aufbau neuer Substanz unersetzlich sind, während stickstofffreie Kohlenstoffverbindungen vorwiegend und unter Umständen sogar allein imstande sind, den Betrieb aufrecht zu erhalten. Je mehr das Wachstum vorherrschende Verrichtung der Zelle ist, desto größer ist der Bedarf an stickstoffhaltiger Nahrung; je mehr Kraftleistungen, z. B. Gärung, in den Vordergrund treten, desto wichtiger sind die stickstofffreien Nahrungsmittel, unter ihnen wieder die Kohlenhydrate. Das Maß des Kohlenstoffbedürfnisses beim Aufbau schwankt natürlich sehr bedeutend, je nach dem Mengenverhältnis, in dem Kohlenstoff und Stickstoff in dem Leibe der Mikroorganismen stehen.

1) Nach H o y e r (§ 135) wäre der Alkohol für die Essigbakterien nur Betriebsstoff („zymotische“ Nahrung), nicht Baustoff („vegetische“ Nahrung).

(§ 23). Die sogenannte Essigmutter braucht sehr viel Kohlenstoff zur Bildung ihrer mächtigen zelluloseähnlichen Hülle. Ein eigentümliches Verhalten, wie kaum ein anderer Mikrobe, zeigt der Tuberkelbazillus: er scheint als Kohlenstoffquelle das Glyzerin nicht entbehren zu können, während sonst die Kohlehydrate, insbesondere die Zuckerarten, vorgezogen werden. Wahrscheinlich hängt das in einem gewissen Grade mit seinem großen Gehalt an Fettstoffen zusammen (§ 26 u. 33).

Einen recht verschiedenen Ursprung haben wohl die „Vorratsstoffe“ (§ 22) der Zellen außer dem Schwefel, indem sie entweder direkt aus ähnlichen Substanzen des Nährbodens oder durch Verwandlung aus anderen hervorgehen (§ 152 und 230, § 231, 130 u. 229).

Die bewegungsvermittelnden Organe der Mikroben (Geißeln, Wimpern, undulierende Membranen, Scheinfüße), ferner die Dauerzustände und Früchte scheinen keiner anderen Baustoffe zu ihrer Erzeugung zu bedürfen, wie das Wachstum selbst. Man kann aber sagen, daß sie um so reichlicher gebildet werden, je günstiger der Nährboden ist. Das schließt nicht aus, daß, wie wir im § 38 u. 39 sehen werden, der Anstoß zur Bildung von Dauerzuständen (Sporen) erst durch Nahrungsmangel, und der Anstoß zur geschlechtlichen Vereinigung manchmal (bei den Plasmodien der Malaria) erst durch Nahrungs- (Wirts-) Wechsel gegeben wird.

Die unregelmäßigen, häufig riesenhaften und verzweigten „Involutions-“Formen, einschließlich der Strahlenpilzkolben und Bakteroiden, wie die Kapseln der Bakterien, verlangen wohl nur insofern besondere Stoffe zu ihrer Bildung, als diese als Reize wirken (§ 3 u. 4).

Von den physikalischen Leistungen, die in Abhängigkeit stehen von der Ernährung, ist neben der Beweglichkeit zu nennen die Wärme- und Lichterzeugung (§ 237 u. 238). Die Beweglichkeit setzt den Besitz von Bewegungsorganen voraus (s. o.), die Lichtproduktion vielleicht besondere Lichtorgane, sie erfordern also plastische Prozesse, alle drei Vorrichtungen mehr oder weniger Betriebsmaterial. Besondere Betriebsstoffe sind aber wohl nicht nötig, wenn man vom Sauerstoff absieht, der für die Lichtentwicklung und bei den Aëroben für die Bewegung unumgänglich zu sein scheint, und von der Zufuhr von Natrium- und Magnesiumsalzen, durch die die Lichtentwicklung begünstigt wird. Von den Nährstoffen sind wieder zu unterscheiden die Reizmittel, die eine Bedeutung für Intensität und Richtung der Bewegungen haben (§ 46 u. 56), aber vielleicht auch Wärme und Lichtentwicklung beherrschen.

Die notwendige Bedingung für das Zustandekommen von Verdauungs-, Gärungs- und Oxydationsvorgängen ist selbstverständlich das

Vorhandensein der zu verdauenden, zu vergärenden, zu oxydierenden Stoffe in den Nährböden. Der zweite, ebenso wichtige Einfluß, die auslösende Kraft für die genannten Vorgänge, also die Enzyme oder die dieselben vertretenden Stoffe im Protoplasma (Kap. XIV), steht allerdings in vielen Fällen den Zellen zu Gebote, auch in Nährböden, die kein Material, auf das sie wirken könnten, enthalten. So kann Lab, tryptisches Enzym, Diastase von den Mikroorganismen gebildet werden in Nährböden, die kein Kasein, verdauliches Eiweiß oder Stärke enthalten. In anderen Fällen fehlt das Ferment, wenn es an vergärbarem Stoff mangelt. Beispielen dafür werden wir bei der Besprechung der einzelnen enzymatischen Vorgänge begegnen. Ausführliche Untersuchungen darüber verdanken wir *F e r m i*, *K a t z*¹⁾, *D u c l a u x*²⁾ und namentlich *W e n t*³⁾. Ein dritter Fall, in dem zwar der Nährboden die vergär- oder oxydierbare Substanz enthält, der an sich zur Zersetzung befähigte Mikrobe aber doch nicht die Gärung oder Oxydation leistet, wird ebenfalls öfter beobachtet. Zahlreiche Beispiele dafür bringen wir in einem der folgenden Abschnitte, der von der Auswahl und dem Zusammenwirken der Nährstoffe handelt (§ 58). Es zeigt sich dabei, daß die Zersetzung entweder durch die gleichzeitige Gegenwart eines anderen durch denselben Mikroben angreifbaren Stoffes verhindert wird, d. h. erst nach dessen Verschwinden in Gang kommt oder umgekehrt erst nach Zufügung eines neuen Stoffes beginnt. In welcher Weise diese Begünstigung und Hemmung der Zersetzung durch Nahrungsstoffe vor sich geht, bleibt zweifelhaft. Wahrscheinlich ist der Mechanismus ein verschiedener. Einzelne der letztgenannten Beobachtungen erklären sich wohl einfach daraus, daß die neu zugeführten Stoffe den zweiten, für das Zustandekommen der Zersetzung unumgänglich notwendigen Bestandteil, z. B. bei der Salpetervergärung den zu oxydierenden Stoff darstellen. Man wird aber auch die Wirkung nicht nährender Reiz- und Hemmungsstoffe auf die fertig gebildeten Enzyme zum Vergleich heranziehen können, ferner den Wettkampf der verschiedenen gärungsfähigen Stoffe miteinander um ein und dasselbe Enzym und umgekehrt die Nützlichkeit eines Zusammenwirkens von solchen für möglich halten dürfen. Die Notwendigkeit und Nützlichkeit bestimmter Baustoffe für die Bildung der Enzyme ist dagegen bisher nicht bewiesen. Wahrscheinlich werden sie nicht unmittelbar aus den Nährstoffen aufgebaut, sondern sind Erzeugnisse des Protoplasmas selbst (s. o.).

Das gleiche gilt wohl auch von der Mehrzahl der noch weniger be-

1) Jahrb. wiss. Bot. 31, 1898, vgl. § 69.

2) Microbiol. 2. 84, 1899.

3) Jahrb. wiss. Bot. 36, 1901. Enzyme einer *Monilia*art.

kannten Eigengifte, Angriffs- und Impfstoffe (Kap. XVI u. XVII) der Mikroorganismen. Die Erfahrung lehrt freilich, daß sich auf gewissen Nährböden diese Stoffe in besonderer Menge erzeugen, gebildet werden sie aber selbst in den einfachsten Nährlösungen mit dem Protoplasma selbst. Daneben gibt es allerdings Gifte (und Angriffsstoffe), die echte Stoffwechselerzeugnisse sind, so Alkohol, Oxalsäure und Ptomaine, für deren Bildung selbstverständlich die Gegenwart der betreffenden Kohlehydrate, Eiweißstoffe usw. nötig ist.

Für die Farbstoffbildung mancher Bakterien hat man Regeln aufgestellt, die namentlich die Ernährung mit Mineralsalzen betreffen (§ 254). So sollen Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat unersetzlich sein. Wenn man erwägt, daß das gerade diejenigen Salze sind, die überhaupt als Nährsalze in Frage kommen, so gelangt man zu dem Schluß, daß, je besser der Nährboden, um so reichlicher auch die Farbstoffe erzeugt werden. Analysen, die etwa beweisen, daß die genannten Mineralien in die Zusammensetzung der Pigmente eingehen, liegen nicht vor. Dagegen ist für das dunkle rotbraune Pigment, das manche Abarten des *Bac. pyocyaneus* absondern, nach G e s s a r d das Tyrosin ein notwendiger Bildungstoff, wahrscheinlich wie „Melanin“ überhaupt ein Oxydationsprodukt desselben.

Etwas besser aufgeklärt ist die Entstehung der Riechstoffe. Daß die Ernährungsart hier einen Einfluß ausübt, ist wahrscheinlich. Nach S a l z m a n n (§ 29) entwickelt z. B. die *Streptothrix odorifera* ihren charakteristischen Geruch, wenn sie mit Äpfel- oder Weinsäure, nicht wenn sie mit Bernsteinsäure genährt wird. In anderen Fällen entstehen Riechstoffe aus bestimmten Aminosäuren (vgl. Fuselöl § 90 u. 173).

Von den übrigen Stoffwechselerzeugnissen soll hier nur folgendes gesagt werden: Alkali (Ammoniak) kann erzeugt werden aus allen N-haltigen Stoffen (Kap. IX u. X), freie Säure setzt meist das Vorhandensein von Kohlehydraten voraus, die in saure Gärung verfallen (§ 97). Fast jede einzelne Säure bildet sich jedoch unter Umständen aus verschiedenen anderen Stoffen, so Essigsäure auch aus Alkohol, Buttersäure aus Fetten, beide Säuren ebenso wie Milchsäure auch aus Eiweiß (§ 168). Das diagnostisch wichtige Indol entsteht ausschließlich aus einer aromatischen Aminosäure, dem Tryptophan des Eiweißes (§ 169 u. 174). Reduzierende Stoffe können aus jeder Nahrung hervorgehen, Nitrite sowohl aus Nitraten (§ 197) als aus Ammoniakverbindungen (§ 196), Schwefelwasserstoff aus allen Schwefelverbindungen (Kap. XI).

Es braucht kaum gesagt zu werden und ist durch die öfteren Verweise schon angedeutet, daß die hier gegebene Übersicht nur die in späteren Kapiteln dieses Werkes zerstreuten ausführlichen Angaben zusammenfassen soll.

§ 36. **Wachstum, Leben und Tod.** Während wir bei höheren Tieren zu sehen gewohnt sind, daß sie nach einer gewissen Zeit aufhören zu wachsen und in dem einmal erreichten Zustand oft länger, als die Entwicklung gedauert, verharren, ohne daß ihre Lebenserscheinungen eine Einbuße zeigen, während also hier der großen Mehrzahl der Zellen wenigstens eine recht beträchtliche Lebensdauer innewohnt, beobachten wir umgekehrt bei allen anderen Wesen, daß sie beständig wachsen, d. h. sich vermehren müssen, wenn sie auf der Höhe ihrer Leistungsfähigkeit bleiben wollen. Dieses Wachstum ist bei den Kleinen, namentlich bei den Bakterien, ein so schnelles, daß z. B. von den Cholera- und Typhusbazillen durchschnittlich kaum 20—30 Minuten dazu gebraucht werden, um sich aufs doppelte zu vermehren. Mit Hilfe der Keimzählung in Platten oder unter dem Mikroskop in gefärbtem oder frischem Zustand — mit oder ohne Beigabe von roten Blutkörperchen (Wright), Tusche (Burri) und dergl. — kann man nach Buchner, Longard und Riedlin¹⁾ diese „Generationsdauer“ leicht berechnen. Denn wenn die Zahl der eingesäten Bakterien a , die in der Ernte nach der Zeit T und nach Zeugung von n Generationen b genannt wird, ist $b = a \cdot 2^n$, also $n = \frac{\log b - \log a}{\log 2}$ und die durchschnittliche Generationsdauer $= \frac{T}{n}$.

Impft man immer wieder von jungen Kulturen auf frische Nährböden derselben Art und bei gleicher Temperatur, so bleibt die Generationsdauer sich im wesentlichen gleich, und man könnte auf diese Weise — theoretisch — das Wachstum beliebig lange fortsetzen, ja, wie man leicht sieht, ins unendliche steigern²⁾. Allerdings ist unter natürlichen Bedingungen dafür gesorgt, daß die „Bäume nicht in den Himmel wachsen,“ so bemerkt man denn auch in den künstlichen Kulturen bald, z. B. bei den gewöhnlichen Einsaaten und Züchtung auf schräger Agaroberfläche bei 37°, wie die Vermehrung nach 24 Stunden verlangsamt wird, bzw. aufhört und sogar einem mehr oder weniger schnellen Absterben Platz macht. Nach Kruse und Pansini³⁾, Kruse⁴⁾, Gotschlich und Weigang⁵⁾, sterben besonders schnell die Pneumokokken und Choleravibrionen, so daß Agarkulturen

1) Zentr. Bakt. 2, 1887.

2) So würde ein Cholerabazillus bei regelmäßiger Verdoppelung binnen 20 Minuten in 24 Stunden zu 1600 Trillionen mit ungefähr 2000 Zentnern Trockensubstanz angewachsen sein (A. Fischer).

3) Zeitschr. Hyg. 11. 139.

3) Zeitschr. f. Hyg. 17. 39.

4) Ebenda 20.

der ersteren schon nach einer Woche überhaupt keine lebenden Bakterien, die der letzteren nach 2 Tagen kaum 10%, nach 3 Tagen kaum 1% der auf dem Höhepunkt der Entwicklung gezählten Keime zu enthalten pflegen, während einige Nachzügler überleben und noch Wochen und selbst Monate übrig bleiben. Typhus-, Coli-, Ruhrbazillen u. a. nehmen nach unseren Erfahrungen langsamer ab. Auch in den einzelnen Kulturen zeigt sich die Abnahme, und zwar tritt sie nach Gotschlich und Weigang im Zentrum derselben auf, während in der Peripherie noch ein Wachstum stattfindet. In der eigentlichen Wachstumsperiode ist die Wachstumsschnelligkeit sehr verschieden, so ist die Generationsdauer namentlich auch zu Anfang und zu Ende derselben erheblich größer (M. Müller¹), Rahn²), ja, es kann sich die Zahl der in den frischen Nährboden eingesäten Bakterien sogar in den ersten Stunden verringern, statt zu wachsen („Inkubationszeit“). Die Temperatur beeinflusst die Entwicklung außerordentlich (Gotschlich und Weigang, Müller, Ficker³), M. Ward⁴); zu niedere und zu hohe verlängern die Generationsdauer und die ersteren auch die Wachstumsperiode⁵). Im übrigen bestehen für jedes Bakterium und für jeden Nährboden besondere Verhältnisse. Als kurzlebig in unseren künstlichen Kulturen sind bekannt außer den meisten Pneumokokkenstämmen, Gono- und Meningokokken, Influenza- und Keuchhustenbazillen; eigentümlicherweise wachsen sie aber zunächst auch ungefähr ebenso schnell wie die anderen Bakterien. Es ist also für die große Mehrzahl der Bakterien ein sehr schneller Anstieg der Keimzahlkurve bezeichnend, während der Abfall derselben mehr oder weniger langsam ist. Die Sporenbildner machen insofern eine Ausnahme, als bei ihnen zwar der Anstieg ebenso schnell stattfindet, der Abfall aber durch die Widerstandsfähigkeit der auf der Höhe der Entwicklung gebildeten Sporen besonders stark verlangsamt wird. Tuberkelbazillen und Strahlenpilze wachsen dagegen verhältnismäßig langsam, erreichen erst in Tagen und Wochen ihren Höhepunkt, um dann wieder langsam abzusterben. Die schließliche Bakterienausbeute ist übrigens recht verschieden, man vergleiche z. B. die zarten Rasen der Pneumokokken und Influenzabazillen mit den

1) Ebenda 20 und Arch. Hyg. 47.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 16.

3) Wachstumsgeschwindigkeit des Bac. coli auf Platten. Med. Dissert. Leipzig 1895.

4) Proceedings Roy. Soc. 58, 1895.

5) Bei zu hoher Temperatur scheint das Wachstum bald überhaupt aufzuhören, wird also die Wachstumsperiode abgekürzt.

üppigen Wucherungen der Staphylokokken, Tuberkelbazillen u. a. m. Der Einfluß der Ernährungsbedingungen auf den Verlauf des Wachstums ist sehr erheblich, wenn auch nicht immer auf den ersten Blick erklärlich. So zeigen z. B. die Untersuchungen, die ich mit D a v i d ¹⁾ an Ruhrbazillen vorgenommen habe, daß die Zahl der in einem gewöhnlichen Bouillonröhrchen entwickelten Bakterien nach 24 Stunden etwa 10 mal so klein ist wie die auf der Oberfläche einer schräggeneigten Agarkultur, trotzdem die Zusammensetzung der beiden Nährböden, wenn man von dem selbst nicht angreifbaren Agar absieht, die gleiche ist. Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich an nichts anderem als dem u n g l e i c h e n S a u e r s t o f f z u t r i t t. Verteilt man die gleiche Menge Bouillon auf ein Kölbchen mit flachem Boden oder auf eine Petrischale, so erhält man etwa in derselben Zeit die gleiche Zahl von Keimen wie auf dem Agar. Wahrscheinlich erklärt sich aus den Sauerstoffverhältnissen auch die Tatsache, daß die Abnahme der Keime in Bouillonröhrchen nicht so regelmäßig und schnell erfolgt wie auf der Agaroberfläche: der Nährboden wird durch das rasche Wachstum dort nicht erschöpft, wie es hier geschieht, sondern der mangelhafte Sauerstoffzutritt verlangsamt nur das Wachstum, das auch in den folgenden Tagen in gewissem Umfange bestehen bleibt. Da freilich gleichzeitig im Bouillonröhrchen wie auf dem Agar die zuerst gewachsenen Keime teilweise absterben, so kann man aus der Keimzahl allein das Fortschreiten des Wachstums nicht erschließen. Immerhin spricht die offenbare Zunahme der Bakterienmasse bzw. des Bodensatzes der Kultur²⁾, namentlich in den Fällen, in denen man die Röhrchen wiederholt schüttelt, d. h. mit Sauerstoff neu in Berührung bringt, sowie das manchmal noch in späteren Tagen deutliche Steigen der Keimzahl dafür, daß das Wachstum in Bouillonröhrchen wirklich nicht so schnell zum Stillstand kommt wie auf der Agaroberfläche. Bei strengen Aërobiern (Heubazillen, Tuberkelbazillen), die nur auf der Oberfläche der Bouillon wachsen, ist der Einfluß des Schüttelns besonders deutlich; man bringt dadurch die oberflächliche Bakteriendecke zum Niedersinken, und es bildet sich darauf eine neue Haut.

Von dem gewöhnlichen Bakterienwachstum unterscheidet sich das der Pilze (und Protozoen³⁾) dadurch, daß es nicht so schnell vorwärts

1) Nicht veröffentlicht.

2) R u b n e r, und seine Schüler, die bei ihren Erntebestimmungen mit flüssigen Kulturen arbeiteten (§ 234), haben auch durch Wägungen die Zunahme der Bakterien noch in späteren Perioden festgestellt. Vgl. auch die Keimzahlen, die B e r g h a u s (Arch. Hyg. 64) und R i e m e r (ebenda 71) geben.

3) Vgl. die Züchtungsversuche bei Trypanosomen von N o v y und Mc Neal, z. B. im Journ. of inf. diseases. 1904.

geht, aber auch nicht so bald aufhört. Es ähnelt dadurch dem der Tuberkelbazillen und Strahlenpilze. Übrigens ist bei den Pilzen wie bei den Bakterien auch nachgewiesen, daß die Schnelligkeit des Wachstums zu Anfang erheblich größer ist als später. So erhielt *Raulin* in seinen bekannten Ernährungsversuchen mit *Aspergillus niger* (§ 29) am 1. Tage eine Ernte von 0,25 g, am 2. Tage 2,0, am 3. Tage 3,9, am 4. Tage 3,3 g. Die Ergebnisse *Mazés* und *Nikolskis* sind ähnliche (§ 232). Sieht man sich allerdings die Zahlen genauer an, so erkennt man, daß nach einer ersten Periode sehr schnellen Wachstums bald eine solche folgt, in der dasselbe ziemlich gleichmäßig fortschreitet. *Falck*¹⁾ hat für holzerstörende Pilze durch Messung der Myzelfäden gefunden, daß jede Art einen bestimmten Längenzuwachs hat, der z. B. für den Hausschwamm bei günstiger Temperatur und dem gleichen Nährboden 2,6 mm in je 4 Tagen beträgt. Da gleichzeitig der Dicken-durchmesser der Pilzfäden für jede Art beständig bleibt, so ist auch der Volumenzuwachs ein gleichmäßiger. Verschiedene Ernährung ändert denselben auffallenderweise, — wenigstens in gewissen Grenzen (1—20% Malzextrakt) — nicht. Wie *Raulin* fand *Falck* einen starken Einfluß der Temperatur auf das Wachstum und entdeckte dabei das Gesetz, daß das Längenzwachstum innerhalb des Zwischenraums zwischen der niedrigsten und der günstigsten Temperatur proportional dem Temperaturzuwachs zunimmt, d. h. daß wir für das Wachstum der Pilze unter dem Einflusse verschiedener Temperaturen ein ähnliches Gesetz haben wie für die Ausdehnung der Gase und den osmotischen Druck von Flüssigkeiten.

Da er die niedrigste Wachstumstemperatur für seine Pilze etwa bei 3° fand, so war $s = \alpha (t - 3) z^2$. Weiter ergab sich, daß der Temperaturkoeffizient $\alpha = \frac{s}{z(t-3)}$, dividiert durch den Durchmesser der Pilzfäden v — den sogenannten Volumkoeffizienten des Längenzwachstums — bei 10 Pilzarten gleich war: $\frac{\alpha}{v} = k = 0,0036$. Gestützt auf Voraussetzungen, auf deren Begründung wir hier nicht weiter eingehen können, kommt dann *Falck* zu dem Schluß, daß der Wachstumsdruck dem osmotischen Druck entspreche und bei allen Pilzen unter wechselnden Temperaturen den gleichen Wert — etwa 10 Atmosphären — besitze. In der Tat fand er durch unmittelbare Beobachtung für den osmotischen Druck eine solche Größe (s. o. Anm. auf S. 4). Ob wir es hier mit mehr als zufälligen Übereinstimmungen zu tun haben, darüber müßte eine Nachprüfung entscheiden. Jedenfalls geht es

1) Zeitschr. f. Hyg. 55, 1906 und *Möller's* Hausschwammforschungen 1. H. 1907.

2) s = Längenzuwachs in μ , α = Temperaturkoeffizient, t = Temperatur in °, z = Zeit in Minuten.

nicht an, allgemein das Wachstum auf den osmotischen Druck zurückzuführen¹⁾).

Wie bei den Bakterien kommt bei den Pilzen das Wachstum schließlich zum Stillstand, und zwar meist unter Sporenbildung. Auch hier findet man die Beobachtung bestätigt, daß die älteren Teile der Kolonien absterben, während die jüngeren noch weiterwachsen. Nach *Pantaneli*²⁾ soll die Lebensdauer der einzelnen Zellen des Myzels von *Aspergillus niger* nur 4—5 Tage betragen. Übrigens ist nach *Köhler*³⁾ in diesen Grenzen jede aus dem Zusammenhang mit dem Myzel abgetrennte Zelle von *Aspergillus* oder *Penicillium* imstande, zu einem vollständigen Myzel auszuwachen, und das gleiche gilt zwar nicht für alle, aber doch für viele Stücke des einzelligen Myzels der Algenpilze.

§ 37. Erklärung der Wachstumserscheinungen. Hunger-tod. Es fragt sich, wie wir uns die hier angeführten Tatsachen des Wachsens, des Wachstumstillstandes und Absterbens erklären sollen. Selbstverständlich handelt es sich dabei, wie bei allen Lebenserscheinungen, um verwickelte Wechselbeziehungen zwischen äußeren Einflüssen und inneren Verhältnissen, und ebenso selbstverständlich sind es chemische Vorgänge, die diesen Veränderungen, namentlich auch den mechanischen Arbeitsleistungen, der Wachstumsbewegung und Zellteilung zugrunde liegen. Unsere Einsicht in die chemischen Vorgänge, die zum Wachstum führen, ist allerdings weit geringer als in diejenigen, die etwa die Gärungen und andere dissimilierende (zersetzende) Vorgänge bedingen (§ 66). Für die letzteren haben wir treibende Kräfte kennen gelernt in den Gärungszymen, die wir sogar von den lebenden Zellen trennen können; synthetische Enzyme, d. h. solche, die den Stoffaufbau, die Assimilation, vermitteln, und daher das Wachstum erst ermöglichen, sind aber bisher nur in ganz beschränktem Maße bekannt geworden (§ 228), und wenn wir sie künnten, wären wir damit auch noch nicht am Ziele angelangt, denn erst das Ineinandergreifen der stoffzersetzenden und aufbauenden Vorgänge und die damit verbundenen Gestaltsveränderungen machen ja das Wachstum aus. Immerhin dürfen wir sagen, daß die Assimilation wie die Dissimilation zur Voraussetzung haben die Aufnahme von Nährstoffen. Wo die letztere nicht stattfinden kann wegen Fehlens von Nährstoffen, mit anderen Worten, bei *Nahrungsmangel*, im *Hungerzustand*, fehlt auch das Wachstum, zum mindesten das gesunde und andauernde Wachstum,

1) Vgl. über den Mechanismus des Wachstums *Pfeffer*, Pflanzenphysiologie 2. Aufl., Bd. II, § 7, 1901.

2) Jahrb. wiss. Bot. 40, 1904.

3) Flora 97, 1907.

das wir hier allein betrachten¹⁾. Daß wir darin eine der wichtigsten Vorbedingungen für den Wachstumsstillstand auch in den Kulturen der Kleinwesen zu erblicken haben, ist nicht zu bezweifeln, die Zufuhr neuer Nährstoffe bringt, wie zahlreiche Erfahrungen beweisen, das Wachstum oft genug wieder in Gang (§ 47). Im Hungerzustande haben wir aber auch schon eine Ursache für die zweite oben festgestellte Erscheinung in unseren Kulturen, das Absterben, gefunden. In der Tat setzt mit dem Nahrungsmangel auch die Selbstverdauung (und Selbstverbrennung) ein, die wir in ihren morphologischen Folgen schon früher studiert haben (§ 9). Damit sind aber die Einflüsse, die zur Wachstums hemmung und zum Tode der Kleinwesen in Kulturen führen, noch nicht erschöpft. Es kommt auch die Wirkung schädigender Stoffwechselerzeugnisse der Mikroben selbst in Betracht (§ 47). Von dem je nach der Art verschiedenen Vorkommen derselben und der Empfindlichkeit der einzelnen Keime gegen Hunger bzw. „Selbstgifte“ wird die oben betonte ungleiche Schnelligkeit des Absterbens in den Kulturen wesentlich abhängen.

Die Eigenart der Mikroben bestimmt andererseits auch in hohem Grade die Schnelligkeit des Wachstums. So vermögen selbst die günstigsten Ernährungsbedingungen nicht die Vermehrung der Tuberkelbazillen so zu steigern, daß sie annähernd so schnell wachsen wie andere Bakterien. Immerhin haben die Wachstumsbedingungen, bestehend in der Dichtigkeit (§ 40) und Reaktion des Nährbodens (§ 41), in Temperatureinflüssen (s. o. und § 42) oder in Bewegungs-, Belichtungs- und Druckverhältnissen (§ 43—45) oder in chemischen Nahrungsreizen und Giften (§ 55 u. 57) eine große Bedeutung für das Wachstum.

So erklärt sich auch die auf den ersten Blick auffallende Beobachtung, die ich zusammen mit David gemacht habe. Es zeigte sich, daß bei Einbringen sehr großer Mengen, z. B. einer ganzen Agarkultur von Ruhrbazillen in ein Bouillonröhrchen überhaupt kein Auswachsen der Keime, sondern von Anfang an eine Verminderung derselben eintrat. Schon der oben erwähnte Umstand, daß wegen des mangelhaften Sauerstoffzutritts das Wachstum in einer solchen Bouillon nur verhältnismäßig spärlich ist, hätte es bewirken müssen, daß die Keimzahl nur um ein geringes, z. B. von 40 Milliarden binnen 24 Stunden auf 44 Milliarden stieg, wenn man hätte annehmen können, daß nur ein kleiner, etwa der gewöhnlichen Einsaat in Bouillon entsprechender Teil der wirklich eingesäten Bazillen die vorhandenen Nährmittel ausnutzte. Da nun aber in Wirklichkeit die Nährstoffe

1) Ebenso wie die Selbstgärung unterhalten wird aus den eigenen Stoffvorräten (Glykogen), so kann auch ein Wachstum auf Kosten der eigenen Substanz z. B. der gleichen Zelle oder anderer Individuen derselben Kultur stattfinden. Beides bleibt aber gewöhnlich nur kümmerlich und auf kurz Zeit beschränkt. Ausnahmen kommen vor, z. B. bei den „sekundären Kolonien“ (§ 49).

der Bouillon sich von Anfang an auf eine viel größere Anzahl von Bakterien verteilen, fällt auf jedes von diesen nicht so viel, als zur Vermehrung genügt, sie geraten deswegen in einen (relativen) Hungerzustand, verzehren einen Teil ihres eigenen Leibes und gehen infolgedessen ohne Wachstum langsam zugrunde. Auch wenn man die Einsaat verringert, bleibt es zunächst dabei, und erst, wenn sie sich dem z e h n t e n Teil eines Agarröhrchen, d. h. derjenigen Menge, die überhaupt in der Bouillon unter spärlichen Belüftungsverhältnissen heranwachsen kann (s. o. S. 132), nähert, beobachten wir eine gewisse Vermehrung. Daß diese Erklärung die richtige ist, folgt aus einer Abänderung der Versuchsbedingungen; wenn nämlich die ganze Agarkultur statt in ein gewöhnliches Röhrchen in einen flachen Kolben mit der gleichen Bouillonmenge gebracht wird, tritt deutliche Vermehrung ein, weil in diesem Falle, wie wir oben sahen, die Ernährungsbedingungen wegen des reichlichen Sauerstoffzutritts viel günstigere sind. Wir sind durch diese Ergebnisse zu dem Schluß gekommen, daß die von E i j k m a n u. a. vorgebrachte Erklärung (§ 47), nach der „Selbstgifte“ verantwortlich zu machen seien für die Keimarmut bzw. das Absterben der Bakterien im Dickdarm usw. nicht stimmt, sondern daß im wesentlichen Nahrungsmangel daran schuld ist.

Aus der im Laufe dieser Erörterung (§ 36) gegebenen Darstellung erhellt, daß nicht alle Individuen einer Kultur gleichmäßig schnell absterben. Auch bei Desinfektionsversuchen zeigt sich etwas Ähnliches, und das gleiche lehren die Erfahrungen, die mit dem Überleben einzelner Keime (ihrer „Latenz“) im Tierkörper, d. h. unter dem Einfluß der keimwidrigen Kräfte desselben gemacht worden sind¹⁾. Wir müssen daher annehmen, daß die I n d i v i d u e n u n g l e i c h e W i d e r s t a n d s f ä h i g k e i t gegenüber schädlichen Einflüssen entweder von Anfang an besitzen oder — etwa durch Anpassung (Kap. XVIII) — erwerben. Nach F i c k e r s²⁾ Feststellungen scheint das letztere der Fall zu sein. Er fand nämlich, daß die Haltbarkeit von Cholerabazillen in der feuchten Kammer (s. o. S. 23) um so größer ist, je älter die Kultur ist, aus der sie stammen, obwohl die Zahl der lebenden Bakterien in den alten Kulturen unvergleichlich geringer ist als in den jungen. Diese größere Haltbarkeit gilt aber nur unter den angegebenen Umständen, d. h. gegenüber der Selbstverdauung, nicht gegenüber dem Austrocknen oder Erhitzen³⁾. Auch ist nach anderen Forschern die größere Widerstandsfähigkeit der älteren Bakterien nicht mit einer größeren, sondern geringeren Wachstumsenergie verbunden, denn nach M. M ü l l e r (§ 36) brauchen die älteren Bakterien längere Zeit, um die kurze Generationsdauer jüngerer Bakterien zu erreichen⁴⁾. A u c h v i e l e a n d e r e E r f a h r u n g e n sprechen ü b r i g e n s i n d e m S i n n e , d a ß i r g e n d e i n e

1) Näheres darüber folgt im 2. Teil dieses Werkes (Infektionslehre).

2) Zeitschr. f. Hyg. 29. 29, 1898.

3) F i c k e r , a. a. O. S. 20 und 44.

4) R a h n (a. a. O.) bestreitet das allerdings für das von ihm geprüfte Bakterium.

Schädigung, die die Bakterien getroffen hat, deren Wachstumskraft ebenso wie ihre Gärkraft, Virulenz usw. im allgemeinen herabsetzt (Kap. XVIII). Friedrich¹⁾ spricht z. B. von einer Wachstumsverzögerung (Inkubation) und einem Virulenzverlust trockener Keime, die in Bouillon hineingebracht werden. Eine Steigerung der Wachstumskraft läßt sich umgekehrt durch Anpassung z. B. an bestimmte vorher ungünstige Nährböden, Antiseptica wie Fluorsalze usw. erzielen (§ 55).

§ 38. Dauerzustände. Sporen. Während die länger überlebenden Keime der gewöhnlich nicht sporenbildenden Mikroben allenfalls als „Ausnahmezellen“ zu bezeichnen sind, sind die auf ungeschlechtlichem Wege entstehenden „Sporen“ der Bakterien, Pilze und mancher Protozoen echte Dauerformen, d. h. Individuen, die mit besonderen Einrichtungen (Hüllen, Verdichtung des Plasmas) versehen sind, um schädlichen Einwirkungen aller Art Widerstand zu leisten. Die Bedingungen für die Sporenbildung und Keimung ebenso wie die morphologischen Vorgänge dabei werden sehr verschieden geschildert. Wir gehen auf die letzteren hier nicht ein. Was die ersteren anlangt, so ist der Vergleich der Sporen- mit der Fruchtbildung mindestens bei Bakterien unseres Erachtens wenig passend und geeignet, irrige Vorstellungen zu erwecken. Die Bakteriensporen zeigen immer das Ende der Entwicklung an, durch fortgesetzte, frühzeitige Übertragung der Bakterien auf neue Nährböden kann man die Sporulation dauernd unterdrücken, während die Fruchtbildung ein notwendiges Glied und nicht immer das Endglied der Entwicklung darstellt. Schon daraus folgt, daß die Bakteriensporen in gewissem Sinne ein Erzeugnis ungünstiger Verhältnisse sind. H. Buchner²⁾ nahm schon seit 1880 an, daß Nahrungsmangel das schädigende Moment sei, das hier in Betracht komme, andere Forscher betonten dem gegenüber mehr die Wirkung schädlicher Stoffwechselprodukte. Auf meine Veranlassung hat Selter³⁾ die Frage noch einmal bearbeitet und stellt sich auf die Seite Buchners. Der wichtigste Beweis dafür ist die Tatsache, daß gut ausgebildete Bazillen am schnellsten in Wasser oder Kochsalzlösung zur Sporenbildung schreiten. Sobald sie in irgendeiner Weise, z. B. durch zu langes Verweilen in alten Kulturen, also wohl durch Stoffwechselprodukte und länger dauernden Nahrungsmangel⁴⁾ geschädigt sind,

1) Arch. Chir. 59, 1899.

2) Zentr. Bakt. 8.

3) Zentr. Bakt. 37, 1904. Lit.

4) Ähnliche Bedingungen führen auch zu dauerndem Verlust des Sporenbildungsvermögens (§ 347). Über die sog. sporogenen Körner Bungs. § 22.

bilden sie keine oder nicht so reichliche Sporen. Weitere Voraussetzungen für die Sporulation sind *Temperaturen*, deren Grenzen etwas über der niedrigen und unter der höchsten Wachstumstemperatur liegen, und für die *Aërobier* möglichst reichlicher *Sauerstoff-zutritt*. Ob es bestimmte Nähr- oder Reizstoffe für die Sporenbildung gibt, ist sehr fraglich, sicher aber hemmen diese — wieder bei *Aërobiern* — Zusätze von Glyzerin oder Traubenzucker. Bei *Anaërobiern* ist das nicht der Fall, eher das Gegenteil¹⁾, auch ist kein Sauerstoffabschluß nötig (S. 102).

Auch bei den *Saccharomyzeten* haben wir nach E. Chr. Hansen²⁾ ganz ähnliche Verhältnisse. Das besagt schon die bekannte, von ihm vor längerer Zeit zur Gewinnung von Hefesporen angegebene Methode der Züchtung von Hefe auf mit Wasser befeuchteten Gipsblöcken. Auch bei *Schimmelpilzen* hört das Wachstum an jedem Punkte einer Kolonie zugleich mit der Sporenbildung auf, während es an der Peripherie, wo noch Nahrung vorhanden ist, ohne daß dort zunächst Sporen entstanden, fort dauert. Wenn man sich ferner auf den Standpunkt *Duciaux* stellt, daß Oxalsäure ein „produit de souffrance“ sei (§ 122), so kann man die Sporen ebenfalls als solche auffassen, denn nach *Charpentier*³⁾ bildet der *Aspergillus niger* Sporen und Oxalsäure gleichzeitig.

Bei der *Sporenkeimung* soll zwischen Bakteriensporen einerseits und Sproß- und Schimmelpilzen andererseits insofern ein Unterschied bestehen, als nach zahlreichen Angaben die ersteren zum Auskeimen einen guten Nährboden gebrauchen, die letzteren mit Wasser vorlieb nehmen oder es sogar vorziehen. Neuerdings berichtet aber *Fischöder*⁴⁾, daß Milzbrandbazillen ebenfalls in Leitungswasser (nicht in destilliertem), wenn auch etwas schlechter als in Bouillon, auskeimen. Man könnte unter diesen Umständen zu dem Schlusse kommen, daß die Sporen in demselben Mittel zu keimen vermöchten, in dem sie sich bilden. Das ist aber, wie die Erfahrung lehrt, im allgemeinen sicher nicht richtig⁵⁾. Die Aufklärung muß erst durch neue Untersuchungen kommen.

1) Nach *Achalme*, *Annal. Pasteur* 1902, 645, hemmt allerdings auch Säurebildung (aus Kohlehydraten) die Sporenbildung der *Anaërobier*. Die Dinge scheinen hier verwickelter zu liegen, vgl. die § 113 angeführte Literatur, namentlich von *Hiblers* Untersuchg. über pathogene *Anaëroben*, 1908.

2) *Zentr. Bakt.* 2. Abt. 5, 1899.

3) *Compt. rend. ac. sc.* 141. 367, 1905.

4) *Zentr. Bakt.* 51. 340, 1909. Lit.

5) Eine Ausnahme machen vielleicht stark entartete Kulturen, auf denen aus Sporen gelegentlich „sekundäre Kolonien“ aufsprössen können. (Vgl. § 49.)

Da das Wachstum unter Bewegung vor sich geht, ist es, wie alle Bewegungen, richtenden Einflüssen unterworfen. Wir werden diese bei den physikalischen Wachstumsbedingungen (§ 46) und chemischen Reizen (§ 56) besprechen. Auf das Aussehen der *Mikrobenkolonien*, das ein gemeinschaftliches Erzeugnis des Wachstums, der Gestalt und Größe der Mikroben, ihrer Beweglichkeit, ihres Schleim-, Pigmentbildungs- und Verflüssigungsvermögen ist, gehen wir hier, weil es in allen Lehrbüchern behandelt wird, nicht ein¹⁾.

§ 39. Befruchtung der Protozoen. Die Dauerzustände (Zysten) der Protozoen, z. B. der Amöben, entstehen vielfach unter ähnlichen Bedingungen wie die der Bakterien und Pilze. In manchen Fällen, z. B. bei Coccidien, geht ihrer Bildung eine geschlechtliche Vermischung voran, in anderen erfolgt die Fruchtbildung auf geschlechtlichem oder ungeschlechtlichem Wege, aber ohne daß die Früchte dauerhafte Zustände darstellten, z. B. bei den Malariaparasiten. Die letztere Art der Fortpflanzung (Schizogonie) tritt ein, wenn die Parasiten in ihrem Wachstum in den roten Blutkörperchen eine gewisse je nach der Abart wechselnde Größe erreicht haben. Ob man von einer Erschöpfung des augenblicklich zur Verfügung stehenden Nährbodens sprechen darf, ist zweifelhaft, jedenfalls wiederholt sich die Bildung der Schizonten beliebig oft, wenn auch in anderen Zellen, in derselben Weise. Die männlichen und weiblichen Geschlechtskeime (Gameten) werden in ähnlicher Weise periodisch gebildet, werden aber erst frei und vereinigen sich nur unter ganz bestimmten Bedingungen, d. h. wenn das parasitenhaltige Blut die Gefäße, z. B. um in einen anderen Wirt überzugehen, verläßt, und schreiten auch erst in dem neuen Wirt zur Sporogonie. Bei den Coccidien findet die geschlechtliche Vereinigung in demselben Wirt statt, bedarf also anscheinend anderer Reize als des Wirtswechsels.

§ 40. Dichtigkeit der Nährböden. Daß die Dichtigkeit (Konzentration) der Nährlösungen oder anders ausgedrückt ihr Wassergehalt für das Gedeihen der Mikroorganismen sehr wesentlich ist, lehren viele Erfahrungen. Trockene Nahrungsmittel unterliegen nicht dem Verderben, d. h. können nicht den kleinsten Lebewesen, die Fäulnis und Gärung verursachen, zum Angriffspunkt dienen. Darauf beruhen ja auch verschiedene Verfahren der Konservierung, so das Trocknen, Pökeln und Einzuckern. Steigt der Wassergehalt nur über 10—20%, und ist Gelegenheit zur Infektion mit Keimen gegeben, so können allerdings schon manche Keime zum Wachstum gelangen, aber keine Bak-

1) Vgl. darüber *Hutchinson*, Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 1907, mit Lit., *Will* ebenda, und bei den Tropismen (§ 46 u. 56). Über „Bakterienblasen“, „Infektionsfäden“ und „Fruchtkörper“ der Myxobakterien s. Schleimgärung (§ 128).

terien, sondern nur Pilze, und zwar in erster Linie Schimmelpilze. Immerhin wird deren Wucherung gewöhnlich erst üppiger bei einem höheren Wassergehalt und erreicht ihr Optimum bei 75—90%¹⁾ Wasser. Damit kommen wir auch den Grenzen näher, in denen noch das Bakterienwachstum gut vonstatten geht. Möglich ist es noch zwischen 65—75% (Weigert)²⁾ und ausnahmsweise noch bei 30—60% (s. u.). Jedoch vertragen bei weitem nicht alle Arten eine starke Anhäufung von Nährstoffen. So werden z. B. die Mikrokokken, die freilich nur unorganische Salze verwerten, schon durch die Gegenwart kleiner Mengen organischer Stoffe geschädigt (§ 196). Diese und ähnliche Angaben, die Schwefel- und Purpurbakterien betreffen, sind freilich jetzt zweifelhaft geworden (§ 208, 209). Von den sogenannten Wasserbakterien, die mit geringsten Spuren organischer Substanz vorlieb nehmen, sollte man am ehesten annehmen, daß sie eine größere Nährstoffdichte nicht vertragen. Bei manchen von ihnen, so bei den nur in Heyden-Agar wachsenden Wasserbakterien Hesse³⁾, mag das der Fall sein, gerade für diejenigen aber, die wir durch die übliche Plattenkultur nachweisen können, nur ausnahmsweise. So sah E. Kohn⁴⁾ den *Micr. aquatilis* zunächst zwar in einer 5 prozentigen Nährlösung nicht wachsen; später erfolgte aber doch sichtbare Entwicklung in 8 prozentiger Lösung, und selbst in 10 Prozent hätte man vielleicht mit Hilfe von Plattenkulturen noch eine unsichtbare nachweisen können. Jedenfalls hat Kohn selbst wie andere Forscher (s. u.) Anpassung von Wasserbakterien an hohe Stoffdichten beobachtet. Die Grenze nach unten liegt im allgemeinen recht tief, am tiefsten für die schon erwähnten „Wasserbakterien“ Boltons⁵⁾, den *Bac. oligocarbophilus* Beijerinck's (§ 33 am Schluß) und manche Schimmelpilze. Aber auch unsere gewöhnlichen Nährlösungen (Peptonbouillon), die etwa 2—3% Trockensubstanz enthalten, sind selbst bei 20—40 facher Verdünnung noch für die Kulturen

1) Vgl. z. B. Raulins Versuch, der in § 232 wiedergegeben ist. Die beste Ausnutzung des Nährbodens, die wohl von dem größten Ernteertrag zu unterscheiden ist, liegt allerdings, wie dort nachgewiesen ist, bei weit schwächerer Konzentration (1—2%). Bei Bakterien fand Rubner (§ 234) in Fleischextraktlösung bis zu 6% ein Steigen der absoluten und relativen Ausbeute.

2) Zentr. Bakt. 36. 1, 1904. Lit. — König und Spieckermann finden (Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 535), daß Futtermittel nicht zersetzt werden bei einem Wassergehalt von über 30%.

3) Zeitschr. f. Hyg. 29 und 42.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt., 16. 721 und 17. 447.

5) Zeitschr. f. Hyg. 1, 1886. Vgl. Wolffhügel und Riedel. Arb. K. Gesundheitsamt 1, Rosenbergs, Arch. f. Hyg. 5, Tiemann-Gärtner, Untersuchg. des Wassers, 527, 1895.

pathogener Bakterien brauchbar, ebenso gestatten auch manche nicht gerade besonders verunreinigte Brunnenwässer ein Wachstum, z. B. von Cholerabazillen¹⁾.

Natürlich wird es nicht allein auf den unbedingten Gehalt eines Nährbodens an festen Stoffen ankommen, sondern ganz wesentlich auf die Art dieser Stoffe. Besonders zu beurteilen sind von vornherein die nicht in Lösung befindlichen Stoffe. Eigelb ist z. B. ein guter Nährboden für Bakterien trotz seines Wassergehalts von 50%, offenbar, weil der größte Teil der festen Substanz, das Fett, darin nicht gelöst, sondern nur aufgeschwemmt, der Wassergehalt der Nährflüssigkeit also in Wahrheit viel höher ist. Ebendahin gehört das Wachstum von Schimmelpilzen in ungereinigtem Olivenöl, das nach van T i e g h e m ²⁾ möglich ist, wenn man die Pilze in einem wasseranziehenden Körper (Fließpapier) in das Öl einführt. Sämtliche Nährstoffe einschließlich des Sauerstoffs sind in ihm in genügender Menge und, wenn man von dem ungelösten Fett absieht, nicht zu stark konzentriert vorhanden. In welcher Dichte die einzelnen wasserlöslichen Stoffe eine Aufhebung des Wachstums bewirken, ist noch nicht im Zusammenhange untersucht worden; nur für Schimmelpilze teilt E s c h e n h a g e n ³⁾ einige Zahlen mit. Danach hemmt Zucker das Wachstum bei 51—55%, Glyzerin bei 37—43%, Natriumnitrat bei 16—21%, Chlornatrium und Chlorkalzium bei 16—18%. Häufiger hat man die Wirkung einiger Bestandteile, in erster Linie der Salze studiert. So wurde festgestellt, daß viele Bakterien (*B. coli*, *enteritidis*, *morbificans bovis*) schon bei 7—10% Kochsalz ihr Wachstum einstellen (S t a d l e r ⁴⁾), daß es aber andere gibt, und zwar namentlich Kokken, die noch bei 20% (P e t t e r s o n ⁵⁾) und sogar bei 20—25% (L e w a n d o w s k y ⁶⁾) noch fortkommen. H o y e hat eine *Torula pulvinata* gefunden⁷⁾, die auf gewaschenem und getrocknetem Dorsch mit 30% Kochsalz noch gedeiht. Ein Vergleich, den L e w a n d o w s k y zwischen Kalium- und Natriumsalzen (der Salz- und Salpetersäure) anstellte, zeigte eine energischere Wirkung der letzteren, auch in äquimolekularen Lösungen. Selbst in einer gesättigten d. h. ca. 30 prozentigen Salpeterbouillon vermehrten sich gewisse Bak-

1) K r u s e , Zeitschr. f. Hyg. 17. 31 und bei G ä r t n e r a. a. O.

2) D u c l a u x Microbiol. 4. 692.

3) Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration usw. Leipzig Dissert. 1889 (nach P u r i e w i t s c h , Jahrb. wiss. Bot. 35, 1900.

4) Arch. Hyg. 35, 1899; vgl. die ältere Arbeit von F o r s t e r und de F r e y t a g (ebenda 11), über den Einfluß des Pökeln.

5) Ebenda 37.

6) Ebenda 49.

7) ref. Zentr. Bakt. 31. 19.

terien noch üppig. Auch nach Z o p f ¹⁾ und A. F i s c h e r ²⁾ sind die Konzentrationsgrenzen beim *Bact. vernicosum* und dem *Bac. subtilis* für die einzelnen Salze verschieden und haben mit ihrem osmotischen Wert unmittelbar nichts zu tun. Durchaus den sonst ermittelten Tatsachen entspricht die Beobachtung Z o p f s, daß die Grenzen für bestimmte Betätigungen der Bakterien, wie z. B. Säure- und Gasbildung, enger gezogen sind als für das Wachstum. Für die Sporenbildung der Anaërobier gilt z. B. nach M a t z u s c h i t a ³⁾ dasselbe Gesetz. Daß Meeresbakterien im allgemeinen einen höheren Salzgehalt lieben und auf einem gewöhnlichen Nährboden deshalb zum Teil schlecht oder garnicht wachsen, war von vornherein anzunehmen und ist auch für nichtleuchtende (R u s s e l l ⁴⁾), für denitrifizierende (G r a n § 198), Schwefel oxydierende (N a t h a n s o n § 210) und Schwefelsäure reduzierende (van D e l d e n § 212) und leuchtende Formen (§ 238) festgestellt worden. Bei Pilzen liegen die Dinge nicht viel anders. Vor allem ist hier das Verhalten zum Zucker studiert worden. Die einzelnen Arten zeigen dabei Besonderheiten. Im Gegensatz zum *Aspergillus niger*, der die besten Ernten bei ziemlich niedriger Konzentration gibt (R a u l i n), wächst z. B. *Aspergillus repens* besser bei 80 als bei 20% (K l e b s ⁵⁾). Dem Wachstumoptimum entspricht hier, wie in anderen Fällen, das Optimum für die Sporenbildung. Letztere hört aber wieder sowohl bei Verringerung als bei Erhöhung der Dichtigkeit früher auf als die vegetative Entwicklung. Ausnahmsweise gedeihen auch Bakterien bei ebenso hoher Zuckerkonzentration wie Pilze, so z. B. das *Bact. vernicosum* Z o p f s (s. o.) noch bei 70% Rohrzucker, 50% Milchzucker oder Dextrin und 40% Glyzerin.

Weniger ist bekannt über den Einfluß der Eiweißkonzentration auf das Wachstum der Mikroben. Indessen werden auch hier große Dichtigkeiten vertragen, wie aus der Brauchbarkeit des Eiweißes, Eigelbs, Blutes und Blutserums zur Züchtung folgt. Ganz verkehrt ist es, wenn W e i g e r t auf Grund seiner Versuche mit eingeeengtem Fleischsaft (s. o.) folgert, daß der Wassergehalt des tierischen Körpers (65—68%) zu gering sei, um Bakterienwachstum zu gestatten und hierin die Grundlage der natürlichen Immunität sucht. Nimmt man nämlich die einzelnen Organe und Gewebe, so findet man meist schon einen weit größeren Wassergehalt und die Interzellularflüssigkeit ist meist wasserreicher, jedenfalls eiweißärmer als Blutserum. Nur die Preßsäfte sind

1) Beitr. Morph. und Physiol. nied. Org., 1892.

2) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl. 1903.

3) Arch. Hyg. 43, 1903.

4) Zeitschr. f. Hyg. 11, 1890.

5) Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen, 1896.

reicher an Eiweiß, aber bekanntermaßen sogar ein besserer Nährboden wie Blutserum (vgl. Immunitätslehre). Wir sind daher gezwungen, nach anderen Ursachen der Immunität zu suchen. Nur für die festesten Gewebe mag die Erklärung *Weigerts* zulässig sein, gilt aber schon nicht für deren Safräume.

In welcher Weise hat man sich nun den wachstumhemmenden Einfluß zu großer und zu kleiner Dichtigkeit zu denken? Im Grunde wissen wir darüber ebenso wenig zu sagen, wie über die ähnlichen Wirkungen zu großer oder zu geringer Sauerstoffspannung (§ 31). Mit dem Zurückgreifen auf osmotische Störungen (§ 2) ist wenig gewonnen, da diese vielfach nicht nachweisbar sind, und wo sie es sind, ohne Schaden für die Zelle ausgeglichen werden können. Es bleibt uns vorläufig nichts anderes übrig als die Vorstellung, daß jeder Organismus, um zu wachsen und sonst regelmäßig zu funktionieren, auf eine innerhalb bestimmter Grenzen schwankende Dichtigkeit der Nährstoffe angewiesen ist. Das ist freilich kaum etwas anderes als eine Umschreibung der nackten Tatsachen selbst.

Mehrfach wurde schon hingewiesen auf die Abhängigkeit anderer Eigenschaften der Mikroben, z. B. der Sporenbildung, des Gärvermögens von der Dichtigkeit der Nährlösung. Noch nicht erwähnt wurde die Beeinflussung der Virulenz, Giftigkeit, Leuchtkraft, der morphologischen Eigenschaften (§ 3). Einzelheiten darüber finden sich in den besonderen Abschnitten. Daß auch eine Anpassung an ungewohnte Nährstoffdichten möglich ist, nimmt uns nicht Wunder. Auch in dieser Beziehung ist Veränderlichkeit geradezu ein Gesetz, das für die meisten Mikroben gilt (Kap. XVIII).

§ 41. Reaktion der Nährböden. Seit lange ist bekannt, daß die Reaktion der Nährböden deren Nährfähigkeit in verschiedener Weise beeinflußt. Im allgemeinen kann man sagen, daß die *s a u r e* *R e a k -*
t i o n das Wachstum von Pilzen einschließlich Hefepilzen, die *n e u t r a l e* und *a l k a l i s c h e* das der Bakterien begünstigt. *R a u l i n* (§ 29) stellte z. B. schon fest, daß der *Aspergillus niger* auf seinen Zuchten sofort von Bakterien überwachsen wurde, wenn er die Weinsäure daraus fortließ. Bei 1‰ Weinsäurezusatz blieben die Kulturen schon ziemlich rein von Bakterien und wuchsen gleichmäßig üppig bis zu ungefähr 6‰ Säuregehalt. Erst bei 20‰ Säure hörte jedes Wachstum des Pilzes auf. Hefe verträgt schon viel weniger, etwa 5—7‰ Milch- oder Weinsäure, während Buttersäurebakterien schon unter 1—2‰ Säure leiden (§ 116). Ausnahmen von der obigen Regel kommen freilich vor. So gedeihen die auf der Haut schmarotzenden Fadenpilze besser auf alkalischen und vor allem Essigbakterien besser auf sauren Nährböden. Auch der Tuberkel-

bazillus wird durch eine leicht saure Reaktion eher gefördert als gehemmt. Die Widerstandsfähigkeit gegen Säure und Alkali unterliegt eben nach je der Mikrobenart großen Schwankungen. Der Typhusbazillus und viele Kokken sowie Milchsäurebakterien vertragen, um die Beispiele fortzusetzen, mäßige Säuregrade (1‰ HCl), wenn sie auch langsamer wachsen als bei alkalischer Reaktion, das Choleraspirillum ist hingegen sehr empfindlich gegen jede Spur Säure und wächst noch üppiger bei einer Alkaleszenz, die den meisten anderen Bakterien schädlich ist¹⁾. In noch viel stärker alkalischen Nährböden kommen die Harnstoffbakterien fort. Sie zersetzen (§ 195) bis zu 12% Harnstoff und erzeugen dadurch schließlich 18% kohlen-saures Ammon. Umgekehrt beginnen die Essigbakterien ihre Entwicklung bei 1—2% Essigsäuregehalt der zu vergärenden Flüssigkeit und steigern den Säuregehalt bis auf 5%. Doch sind diese Bakterien nur für die Essigsäure angepaßt, Mineralsäuren hemmen ihre Entwicklung schon in verhältnismäßig geringer Menge (§ 135). Bei anderen Mikroorganismen, z. B. den Milzbrandbazillen entfalten alle Säuren annähernd eine gleiche Wirkung, d. h. sie wirken gleich in ä q u i v a l e n t e r M e n g e (v. L i n g e l s h e i m ²⁾). Andererseits wollen K r ö n i g und P a u l ³⁾ die Wirkung der Säure parallel gehen lassen ihrem e l e k t r o l y t i s c h e n D i s s o z i a t i o n s g r a d. Es dürfte wohl schwer fallen, allgemeine Regeln aufzustellen. Giftwirkung auf manche Organismen entfalten salpetrige Säure, Ameisensäure, Buttersäure, Baldriansäure — aber nur in freiem Zustande, nicht in Form von Salzen. Die Oxalsäure dagegen, die für höhere Pflanzenzellen so giftig ist, schädigt Schimmelpilze selbst in 1 prozentiger Lösung nicht. Hier liegt wohl die Erklärung nahe, daß das geringe Kalkbedürfnis der Mikroorganismen (§ 28 u. 30) daran schuld ist (L ö w).

Wie empfindlich manche Mikroorganismen gegen Veränderungen der Reaktion sein können, lehrt folgendes Beispiel⁴⁾: Pneumokokken wurden in gleicher Menge geimpft in Röhrchen mit Nähragar, dann eine steigende Anzahl Tropfen einer 1/10 Normalnatronlauge zugesetzt. Der Agar wurde darauf sofort zu Platten ausgezogen und mehrere Tage bebrütet. Die Zahl der Kolonien, die sich entwickelten, betrug

	0	270	10200	∞	∞	13500	1800	
bei Zusatz von	0	8	16	24	32	40	48	Tropfen Alkali.

1) bei einem Überschuß von 1/4% Soda. K r u s e, Zeitschr. f. Hyg. 17. 35. Über Milchsäurebakterien vgl. § 101.

2) Zeitschr. f. Hyg. 8. 202.

3) Zeitschr. f. Hyg. 25.

4) K r u s e und P a n s i n i, Zeitschr. f. Hyg. 11.

Die Bedeutung, welche die Reaktion des Nährbodens für den Wettbewerb nebeneinander lebender Mikroorganismen haben muß, ist ohne weiteres verständlich. So werden in sauren Lösungen, die Bakterien allein allenfalls noch ein Wachstum ermöglichen, diese von Schimmelpilzen schnell unterdrückt, umgekehrt die letzteren von den ersteren bei alkalischer Reaktion. Bakterien, die selbst Säure erzeugen, Schimmelpilze, die Säure verzehren, können sich auf diese Weise ihr eigenes Grab graben (vgl. Metabiose § 50). Aber die Schädigung erstreckt sich bei den Mikroben, die Säure oder Alkali bilden, auch auf die Entwicklung in Reinkulturen. So hören die Essig- und Milchsäurebakterien¹⁾, die Harnstoffvergärer und andere Ammoniak erzeugende²⁾ Mikroben schließlich selbst zu wachsen auf, wenn der Gehalt an Säure oder Alkali zu hoch wird (vgl. Selbstgifte § 47).

Aus dieser Empfindlichkeit der Mikroorganismen gegen die von ihnen selbst gebildeten Säuren oder Alkalien erklärt sich die Begünstigung, die ihr Wachstum erfährt durch Zusatz von Säure oder Ammoniak neutralisierenden Mitteln zum Nährboden (kohlensaurer Kalk einerseits, phosphor- oder schwefelsaurer Kalk andererseits).

§ 42. **Einfluß der Temperatur auf die Ernährung.** Maßgebend für die Ernährung ist unter den physikalischen Einflüssen vor allem die Temperatur, bei der sie erfolgt. Für jeden Mikroorganismus gibt es eine günstigste (optimale), eine oberste (maximale) und niederste (minimale) Temperatur. Die Grenzen liegen verschieden weit auseinander. Der gewöhnliche Schimmelpilz, *Penicillium glaucum*, wächst am besten bei Zimmertemperatur, aber auch noch bei wenigen Graden (3°) über 0 kommt er, wie die meisten saprophytischen Pilze, fort, bei Bluttemperatur nicht mehr. Etwas höher liegen die Grenzen für die Bierhefe und die Essigbakterien. Ein anderer Schimmel, *Aspergillus fumigatus*, gedeiht zwischen 20 und 60°, am besten bei 37 — 40°. Sehr viele Bakterien, darunter die meisten pathogenen, wachsen zwischen 3—45°; manche pathogenen, wie die Tuberkelbazillen, Gono- und Meningokokken, sind aber beschränkt auf Temperaturen, die der Bluttemperatur nahe liegen. Im allgemeinen besteht die Regel, daß die für Warmblüter pathogenen Bakterien und Pilze auch bei der **B l u t t e m p e r a t u r** am besten und schnellsten wachsen, nur der Pestbazillus scheint eine Ausnahme zu machen, insofern er zwischen 25—30° am üppigsten gedeiht. Typhus, Milzbrand, Cholera, Fleischvergiftungen kommen noch bei 3—5°, wenn auch höchst kümmerlich, fort. Andere (Pneumokokken,

1) Über die einzelnen Arten von Säurebildnern vgl. § 35 am Schluß und § 97, über die auf die Säurebildung begründeten diagnostischen Methoden § 112.

2) Vgl. Kap. IX u. X.

Diphtheriebazillen) können wenigstens noch bei 20—24°, d. h. Temperaturen, wie sie im Sommer häufig sind, sich vermehren. Die Protozoen der Menschen- und Tiermalaria, der Hämoglobinurie der Rinder, wahrscheinlich auch die Trypanosomen und Spirochaeten gedeihen nicht nur in den Warmblütern, d. h. bei hoher Temperatur, sondern auch in Stechmücken, Fliegen, Zecken, also bei weit niedrigeren Temperaturen, doch scheinen auch sie an Minima gebunden zu sein, die nur in der wärmeren Jahreszeit erreicht werden. Daraus erklärt sich zum großen Teil die Vorliebe dieser Infektionen für das wärmere Klima.

Mikroorganismen, die besonders niedere Temperaturenggrade vertragen, werden auch als *psychrophile*, *glaziale* oder „kälte liebende“ bezeichnet. Solche sind zuerst von Forster¹⁾ aus allen möglichen Substanzen (Gartenerde, Kanalwasser, Meerwasser), dann von B. Fischer²⁾, M. Müller³⁾, Schmidt-Nielsen⁴⁾ isoliert worden. Der Name ist eigentlich nicht gerechtfertigt, denn sämtliche bisher untersuchten Arten wachsen bei höheren Temperaturen, z. B. 10—20° besser als in der Nähe von 0°, man sollte sie daher „kältevertragende“, psychrotolerante nennen.

Den Gegensatz zu den glazialen Formen bilden die *thermophilen*, „hitzeliebenden“, die zwischen 30—70°, ja bis 80° gedeihen. Solche Mikroorganismen wurden zuerst 1881 von Miquel in Flußwasser, ferner von van Tieghem, Certes und Garrigan gelegentlich gefunden, ihr regelmäßiges Vorkommen an allen möglichen Stellen der Erdoberfläche wurde von Globig⁵⁾ nachgewiesen. In anderen Stoffen wie Wasser, Pflanzenstoffen, Fäzes, Milch, Vaginalschleim fanden sie dann F. Cohn⁶⁾, Macfadyen und Blaxall⁷⁾, Rabinowitsch⁸⁾, Karlinski⁹⁾, Kedzior¹⁰⁾, Laxa¹¹⁾, Opreescu¹²⁾, Schillinger¹³⁾, Tsiklinsky¹⁴⁾, Sames¹⁵⁾.

1) Zentr. Bakt. 2. 337 und 12. 431.

2) Zentr. Bakt. 4. 89.

3) Arch. f. Hyg. 47.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9.

5) Zeitschr. f. Hyg. 3.

6) Ber. bot. Ges. 1893. 66.

7) Journ. of Path. Bact. 1894.

8) Zeitschr. f. Hyg. 20.

9) Hyg. Rundschau 1895. 695.

10) Arch. Hyg. 27, 1896.

11) Zentr. Bakt. 2. Abt., 4. 362, 1898.

12) Arch. Hyg. 33, 1898.

13) Hyg. Rundschau 1898. 568.

14) Annal. Pasteur, 1899.

15) Zeitschr. f. Hyg. 33, 1900.

Schütze¹⁾, Miehle²⁾. Sehr merkwürdig sind diese Mikroorganismen von zwei Gesichtspunkten aus; erstens, weil sie bei Temperaturen zu leben vermögen, die für fast alle anderen Organismen schädlich, ja in kürzester Zeit tödlich sind, zweitens, weil man sich zunächst vergebens fragt, wo sie denn überhaupt unter natürlichen Verhältnissen die Bedingungen zu ihrem Fortkommen finden. Nur soweit sie in heißen Quellen gefunden worden sind, beantwortet sich die Frage ohne weiteres, aber die meisten haben mit solchen offenbar nichts zu tun. Man wird in erster Linie mit Globig daran denken müssen, daß die Bestrahlung des Erdbodens durch die Sonne ihnen gelegentlich die nötigen Bedingungen schafft. Andere Möglichkeiten werden ihnen aber geboten durch die hohen Temperaturen, die in Misthaufen, Futterstapeln usw. durch Selbsterhitzung, d. h. mikrobiotische und makrobiotische Fermentvorgänge erzeugt werden (Cohn, Schütze vgl. § 157 u. 237). Die Zwischenzeit, wenn sie die nötige Wärme nicht zur Verfügung haben, müssen sie in Form von Dauerzuständen überleben. In der Tat sind die Thermophilen sämtlich Sporenbildner, seien es nun Bazillen oder Strahlenpilze (Kedzior, Tsiklinsky, Sames, Schütze u. a.) oder Schimmelpilze (F. Cohn). Für viele von ihnen besteht noch eine andere Möglichkeit: es sind diejenigen, die auch bei niederen Temperaturen (20—40°) noch mehr oder weniger gut wachsen können, die sog. thermotoleranten (Schilling). Ein eigentümliches Verhältnis haben für einige von diesen Rabinowitsch und Schütze aufgedeckt: während sie bei hohen Temperaturen regelmäßig besonders gut bei Luftzutritt vegetieren, kommen sie bei niedrigen oft besser ohne Sauerstoff fort (vgl. S. 104). Zu den mäßige Hitze ertragenden Bakterien gehören übrigens auch einige gute Bekannte, so das gewöhnliche Bact. coli des Säugetier- und Vogeldarmes, das bei etwa 46° noch leidlich gedeiht und sich dadurch von den Colibazillen anderen „unschuldigen“ Ursprungs (Eijkman³⁾, Christian u. a.) und den pathogenen Darmbakterien (Kruse⁴⁾) unterscheidet.

Die obige Beobachtung Rabinowitschs gibt uns Anlaß, auf andere Verschiedenheiten zurückzukommen, die sich in den Eigenschaften der Mikroorganismen zeigen, je nach der Temperatur, bei der sie sich entwickeln. So werden von vielen Pigmentbakterien z. B. dem

1) Arch. f. Hyg. 67, 1809.

2) Zeitschr. f. Hyg. 62.

3) Zentralbl. Bakt. 37.

4) Zeitschr. f. Hyg. 59. 20, 1908. Hier wird auch die Brauchbarkeit der „Eijkman'schen Coliprobe“ für die Wasseruntersuchung besprochen. Vgl. dazu Fromme, Zeitschr. Hyg. 65, 1910 (mit Lit.).

Prodigiosus bei Bruttemperatur keine Farbstoffe gebildet. Die Milzbrandbazillen und andere pathogenen Bakterien verlieren bei 42—43° allmählich ihre krankmachenden Fähigkeiten¹⁾, die Hefe-, Coli- und Essigbakterien gären viel schlechter bei den Grenztemperaturen. Die Sporenbildung aller Mikroorganismen erfolgt in engeren Temperaturgrenzen als das Wachstum²⁾. Auch die Assimilation von Nährstoffen ist von der Temperatur abhängig. Penicillium wächst z. B. nach Thiele³⁾ bei Gegenwart von Glyzerin und ameisensaurem Natron noch bei 35 bis 36°, bei der von 4% Traubenzucker nur noch bei 31°. Auch Zunahme der Konzentration der Zuckerlösung kann die obere Temperaturgrenze hinaufschieben. Das Temperaturminimum ließ sich durch solche Veränderungen der Nahrung nicht verschieben. Nach Wehmer⁴⁾ ist Aspergillus niger bei 8—10° nicht imstande, Oxalsäure zu verbrennen, wohl aber bei höherer Temperatur. Ganz allgemein wird durch diese Beobachtungen das uns schon bekannte Gesetz bestätigt, daß die Grenzen für das Wachstum der Mikroben nach oben wie nach unten weiter vorgeschoben sind als diejenigen für die Betätigung ihrer übrigen Eigenschaften⁵⁾, z. B. Sporen- und Enzyymbildung, Pathogenität. Ebenso entspricht die Tatsache, daß eine Anpassung an höhere und niedrigere Temperaturen möglich ist, den sonstigen Erfahrungen über Veränderlichkeit der Kleinwesen (Kap. XVIII).

Wenn Mikroorganismen jenseits der Temperaturgrenzen, innerhalb deren das Wachstum möglich ist, gehalten werden, beginnen sich zuerst Entartungs-, dann Absterbevorgänge bemerklich zu machen. Diese verlaufen in der Nähe der oberen Temperaturgrenze viel schneller als in der der unteren. Damit stimmt zusammen die stärkere Desinfektionswirkung höherer Temperaturen und die schwächere oder fehlende (konservierende Wirkung) niederer, auf die wir hier nicht näher eingehen.

§ 43. Bewegung und Erschütterung. Von anderen physikalischen Einflüssen kommt für die Ernährung der Mikroorganismen zunächst die Bewegung oder Erschütterung des Nährmittels in Betracht.

1) Merkwürdigerweise verlieren die Kulturen des Trypanosoma Brucei nach Novy und McNeal (Journ. of infect. diseases 1904, S. 23) schon bei 34° ihre Virulenz, obwohl sie doch im Tierkörper weit höheren Temperaturen ausgesetzt sind, ohne darunter zu leiden.

2) Nach Herzog (Zeitschr. phys. Chem. 37, 1903) soll die Geschwindigkeit der Sporenbildung bei der Hefe in ähnlicher Weise von der Temperatur abhängen, wie die Enzymwirkungen nach Tammann (§ 244).

3) Kochs Jahresber. 1896. 45.

4) Ber. bot. Ges. 1891. 163.

5) Vgl. § 31 und 38. Die Beweglichkeit macht eine Ausnahme (s. u. § 46), auch die Enzyme der Mikroben wirken noch jenseits der Wachstumstemperatur (§ 244).

Hoppe-Seyler¹⁾ hat schon festgestellt, daß fortgesetzte ruhig fließende Bewegung die Entwicklung der Spaltpilze nicht hemmt; dagegen sollen nach Horvath²⁾ langdauernde intensive Erschütterungen Entwicklungshemmung und sogar Abtötung veranlassen. B. Schmidt³⁾ hat das für *Staphylococcus pyogenes citr.* und *Spirillum Finkler*, nicht für den Typhusbazillus, den *Bac. prodigiosus* u. a., Meltzer⁴⁾ für *Bac. megatherium*, nicht für *Bac. fluorescens non liquef.* bestätigen können⁵⁾. Sogar starke Schallwellen, die durch den Nährboden geleitet werden, können nach Reinke⁶⁾, leise Zitterbewegungen wie sie in Fabriken durch die Maschinentätigkeit hervorgerufen werden, nach Meltzer Verlangsamung des Wachstums und selbst feinkörnigen Zerfall der Bakterienzellen verursachen. Wenn hieraus schon auf große Verschiedenheiten in der Empfindlichkeit der einzelnen Arten geschlossen werden kann, so sprechen andere Beobachtungen Meltzers, die er an einem Wasserbazillus gemacht hat, dafür, daß ein geringes Maß von Erschütterung sogar förderlich sein kann. Unbedingte Ruhe sowie sehr starke Erschütterung übte auf denselben Wasserbazillus einen nachteiligen Einfluß. Meltzer vergleicht danach die Wirkung der mechanischen Bewegung mit der der Wärme: in beiden Fällen würde äußere Energie den lebenden Zellen zugeführt, bis zu einer gewissen Grenze mit günstigem Erfolge, jenseits der Grenze mit ungünstigem. Je nach der Eigenheit der Mikroorganismen lägen diese Grenzen höher oder tiefer. Mit dieser Auffassung stimmen auch andere Erfahrungen, die an gärenden Gemischen gemacht worden sind. Schlösing⁷⁾ fand durch Versuche, daß Umrühren, Umpacken,

1) Über den Einfluß des Sauerstoffs auf Gärungen, 1881.

2) Pflügers Arch. 17, 1887.

3) Arch. f. Hyg. 13, 1891.

4) Zeitschr. f. Biol. 30, 1894.

5) Die Schüttelversuche mit Bakterien, die in Wasser aufgeschwemmt sind, gehören eigentlich nicht hierher, wo wir von Wachstumsbedingungen sprechen. Sie sind übrigens größtenteils früher negativ ausgefallen. Die neuesten zur Gewinnung von Giften, Aggressinen und Antigenen (§ 272, 320, 333 ff.) angestellten Schüttelversuche mit dichten (meist wässrigen) Aufschwemmungen von Reinkulturen zeigen aber, daß die Bakterienzellen auch ohne Beigabe von Sand und dgl. durch fortgesetztes Schütteln stark geschädigt werden können, ja schon in kurzer Zeit absterben. Bei genügender Dichte würde das in Nährflüssigkeiten wohl nicht anders sein; da die Dichte und damit die Berührungsmöglichkeiten aber hier viel geringer sind, wird es verständlich, daß nur empfindliche Keime Schaden erleiden. Selbst das energische Ausschleudern in der Zentrifuge soll das Leben von Cholera-bazillen schädigen (R. Pfeiffer).

6) Pflügers Arch. 23, 1880.

7) Compt. rend. ac. sc. 125. 40.

Erschütterungen von gärenden Tabakhaufen, Mist und dgl. die darin herrschende Gärung beförderte, und daß daran nicht etwa die Lufterneuerung schuld wäre, sondern die Bewegung an sich. Bei der alkoholischen Gärung durch Hefe liegen die Dinge etwas verwickelter. Bewegungen können hier sowohl dadurch wirken, daß sie die Berührung der Hefe mit Sauerstoff erleichtern, als rein mechanisch. Wenn man Luft oder reinen Sauerstoff durch die Hefekulturen leitet, machen sich beide Einflüsse geltend, benutzt man dazu ein indifferentes Gas, nur der letztere. *Buchner* und *Rapp*¹⁾ haben dabei festgestellt, daß die reichliche Sauerstoffzufuhr das Hefewachstum begünstigt und — wenigstens in gewissen Grenzen — die Gärung nicht beeinträchtigt, sondern befördert, daß aber starke Erschütterungen der Flüssigkeit, wie sie bei zu reichlicher Durchleitung von Gas oder im Schüttelapparat entstehen, die Hefe schädigen können, und zwar um so mehr schädigen, je schlechter die Nährlösung und je weniger lebenskräftig die Hefe ist. Die Frage, ob nicht leichtere Erschütterungen das Hefewachstum begünstigen, haben die Autoren nicht berührt. *Hansen*²⁾ glaubte sie schon früher in bejahendem Sinne beantworten zu können. Der neueste Forscher auf diesem Gebiete, *Appel*³⁾, will die Ergebnisse oder wenigstens die Deutung *Meltzer's* nicht gelten lassen. In der Tat scheint es, daß die nachteiligen Folgen der Erschütterung, soweit sie überhaupt hervortreten, wohl am einfachsten durch die Reibung der Keime aneinander, der Gefäßwände usw. zu erklären seien⁴⁾. Sehr der Nachprüfung bedürftig erscheinen die Angaben *Holzinger's*⁵⁾ über den schädlichen Einfluß osmotischer Ströme auf Bakterien.

§ 44. **Druckerhöhung.** Steigerung des Druckes schädigt die Lebensfähigkeit von Schimmelpilzen, Hefen und Bakterien, wenn überhaupt, nur in verhältnismäßig unbedeutendem Grade, man findet daher letztere Keime auch in den größten Meerestiefen, z. B. bei 1100 m (*Russell*⁶⁾, *B. Fischer*⁷⁾), und selbst bei 200—400 m Tiefe, d. h. bei 20—40 Atmosphären Druck, noch so zahlreich, daß man an ihr Wachstum an diesen Stellen glauben möchte. Für den Schlamm des Mittelländischen Meeres aus Tiefen bis zu 1100 m hat *Russell* es sehr wahrscheinlich gemacht, daß die gefundenen Bakterien auch dort zu wachsen vermögen, denn sie glichen nicht den Formen des

1) Zeitschr. f. Biol. 37, 1898. Vgl. § 91.

2) Compt. rend. du laboratoire Carlsberg 1879.

3) Schriften der phys. ökonom. Ges. Königsberg 1899, 40.

4) Vgl. Anm. 5, S. 149.

5) Münch. med. Woch. 1909, 46.

6) Zeitschr. f. Hyg. 11, 1891.

7) Deutsche med. Woch. 1899. 37.

darüber stehenden Wassers, waren auch viel reichlicher und bestanden nur zum Teil aus Sporen. Sie gehörten anscheinend sämtlich zu den gelegentlichen oder strengen Anaërobiern. Allzuviel Sauerstoff wird ihnen übrigens in der Meerestiefe auch nicht zur Verfügung stehen, trotzdem der hohe Druck an sich eine Übersättigung mit diesem Gase gestatten würde. Dagegen ist den Keimen gerade im Mittelmeer eine verhältnismäßig hohe Temperatur (13°) geboten. Von sonstigen Angaben über das Wachstum bei hohem Druck ist zunächst die ältere von C e r t e s ¹⁾ zu erwähnen, nach der die Fäulnis in Meerwasser bei 350—500 Atmosphären langsam verlaufe, aber doch eintrete. R e g n a r d ²⁾ bestätigt das insofern, als er Harn mit faulem Käse versetzt, bei 600 Atmosphären 21 Tage lang zwar klar und geruchlos, aber nicht bakterienfrei bleiben sah. Hefe- und Milchsäuregärung blieben unter denselben Bedingungen aus. Danach würden also aërobe und anaërobe Wachstumsvorgänge durch sehr hohen Druck mindestens behindert werden. Von welcher Grenze an das geschieht, ist aber noch unbekannt. Während der Sauerstoff in allen diesen Versuchen keine Rolle gespielt zu haben scheint, wies C h u d i a k o w, wie wir schon sahen (S. 98) nach, daß, sobald dieser freien Zutritt zu den Nährlösungen hat, schon verhältnismäßig geringe Überdrucke (ca. 3—10 Sauerstoff-Atmosphären) das Wachstum aller daraufhin geprüften Mikroben unmöglich machen. Hier ist es also nicht der Druck an sich, sondern die S a u e r s t o f f - s p a n n u n g, die schädlich wirkt. Auch D r u c k v e r m i n d e r u n g wird nur auf diesem Wege, selbstverständlich aber nur den Aërobiern gefährlich.

Durch die schädliche Wirkung der zur Druckerhöhung benutzten Kohlensäure erklärt sich wahrscheinlich die starke B e e i n t r ä c h t i g u n g der L e b e n s f ä h i g k e i t von Bakterien, die d'Arsonval und Charrin ⁴⁾ bei hohem Druck eintreten sahen. Krause ³⁾, Chlopin und Tammann ⁵⁾ beobachteten nur einen ziemlich geringen, übrigens je nach der Mikrobenart wechselnden Einfluß selbst bei Druck von 3000 Atmosphären, wenn sie die obige Fehlerquelle, z. B. durch Pressung mit Rizinusöl ausschalteten. Leider ist aus ihren Versuchen aber nicht zu ersehen, wie sich das W a c h s t u m in den unter Druck stehenden Flüssigkeiten selbst verhielt. D a n a c h dem Aufhören des Druckes aber meist eine Schwä-

1) Compt. rend. ac. sc. 99.

2) Rech. expér. sur les conditions physiques de la vie dans les eaux, 1891 (bei Chlopin und Tammann s. u.).

3) Kochs Jahresber. 1893, 115.

4) Zentr. Bakt. 31.

5) Zeitschr. f. Hyg. 45, 1903.

chung der Wachstumsschnelligkeit, ebenso wie des Gärvermögens, der Virulenz und Beweglichkeit festgestellt wurde, ist anzunehmen, daß sich ähnliche Erscheinungen um so mehr während des Versuches bemerkbar gemacht haben werden.

§ 45. Elektrizität und Licht. Der elektrische Strom scheint — als Wechsel- oder konstanter Strom — nur durch seine thermischen oder elektrolytischen Wirkungen das Bakterienleben zu beeinflussen (Thiele und Wolf¹⁾, Zeit²⁾). Nach Rieder³⁾ schädigen dagegen Röntgenstrahlen und nach Pfeiffer und Friedberger⁴⁾, Tizzoni und Bongiovanni⁵⁾ Radiumstrahlen die Mikroben ähnlich, wenn auch schwächer wie Lichtstrahlen (Dorn, Baumann und Valentiner⁶⁾). Wahrscheinlich sind die Wirkungen auf tierische Gewebe und Protozoen stärker. So wird auch von Chénneau und Bohn angegeben⁷⁾, daß Infusorien unter dem Einfluß sehr starker Elektromagnete erheblich in ihren Lebenserscheinungen beeinträchtigt werden.

Das Licht hat für die Ernährung der Mikroorganismen lange nicht die Bedeutung, wie für die der chlorophyllhaltigen Pflanzen. Ein günstiger Einfluß der Belichtung ist, wenn man von den Chlorophyll- und Purpurbakterien absieht (§ 253), bisher fast nur bei Pilzen beobachtet worden. So will Gaillard⁸⁾ gefunden haben, daß *Penicillium glaucum* und *Oidium albicans*, sowie die Rosahefe sich unter Belichtung besser entwickeln, Elfving⁹⁾ sah aber umgekehrt bei *Penicillium* unter zerstreuter Belichtung, wenn er die Pilze mit Zucker und Ammoniak ernährte, eine Verlangsamung des Wachstums eintreten. Die violetten Strahlen waren die wirksamen. In Kulturen mit Pepton oder Pepton und Zucker war dagegen kein Unterschied zu merken. Die Sporenbildung wurde in keinem Fall beeinflußt. Brefeld¹⁰⁾ hat wiederum

1) Zentr. Bakt. 25 mit Lit., vgl. Lehmann und Zierler, Arch. f. Hyg. 46.

2) American Journ. of medic. association 1901 (Teslaströme).

3) Münch. med. Wochenschr. 1898, 4 und 1902, 10. Vgl. aber die entgegenstehenden Angaben Zeits über Bakterienbeeinflussung und die sehr ungleichen von Schaudinn, Löwenthal und Rutkowski (Therap. d. Gegenw., Sept. 1907) u. a. über ihre Wirkungen auf Protozoen.

4) Zentr. Bakt. 34.

5) Ebenda 39.

6) Zeitschr. f. Hyg. 51, 1905.

7) Compt. rend. ac. sc. 136, 1903.

8) bei Raum, Zeitschr. f. Hyg. 6. 331.

9) Studien über Einwirkung des Lichtes. Helsingfors 1890 (nach Dulaux).

10) Untersuchungen über Schimmelpilze Heft 8, 1889.

angegeben, die Belichtung habe auf die vegetative Entwicklung höherer Pilze keinen Einfluß, begünstige aber, und zwar durch die violette Seite des Spektrums, die Fruchtbildung. Hefe verhält sich nach K n y ¹⁾ gleichgültig gegenüber mäßiger Belichtung. Eine sorgfältige Untersuchung führte L e n d n e r ²⁾ zu dem Satz, daß das zerstreute Licht für die Ausbildung der Sporangien- und Konidienfrüchte der Schimmelpilze nur nötig sei, wenn die sonstigen Ernährungsbedingungen ungünstige seien. Die einzelnen Arten der Schimmelpilze verhalten sich aber nach seinen Angaben so verschieden, daß eine Regel überhaupt nicht klar hervortritt. Die neuesten Versuche M a x i m o w s ³⁾ betreffen nur die Atmung, d. h. die Kohlensäureausscheidung der Schimmelpilze (§ 220), nicht die Ernährung und sollen nur angeführt werden, weil sie während einiger Stunden dem obigen Satze L e n d n e r s entsprechende Resultate ergaben: Alte und schlecht genährte Kulturen erzeugten in der ersten Stunde der Belichtung mehr Kohlensäure als unbelichtete; junge, gut entwickelte blieben unbeeinflußt.

Alle Forscher stimmen darin überein, daß allzu starke Belichtung, z. B. durch die direkten Sonnenstrahlen oder eine Bogenlampe, für Pilze und Hefen schädlich sei (vgl. L o h m a n n ⁴⁾). Die sehr zahlreichen Untersuchungen über die Einwirkung des Lichts auf B a k t e r i e n ⁵⁾ haben fast ausnahmslos zu dem Resultat geführt, daß unter allen Umständen selbst schwache Belichtung das Wachstum beeinträchtigt. Sehr belehrend ist in dieser Beziehung die Versuchsanordnung B u c h n e r s: man braucht nur eine gleichmäßig besäte Agarplatte auf der Unterseite mit Papierbuchstaben oder Figuren zu bekleben und dem Lichte von dieser Seite her zeitweise auszusetzen, um nach einigen Tagen die Schrift oder die Figuren durch das stärkere Wachstum der darunterliegenden beschatteten Kolonien auf der Platte hervortreten zu sehen. Je stärker das Licht, um so kräftiger natürlich die Wirkung. Sonnenlicht gehört geradezu zu den stärksten Desinfizienten, da es selbst Sporen schnell vernichtet. An der Wirkung sind das blaue, violette und ultraviolette Licht am wesentlichsten beteiligt, aber auch das ultrarote wirksam. Sauerstoffzutritt befördert sie sehr, ebenso eine eigentümliche, noch nicht

1) Ber. bot. Ges. 1894.

2) Ann. sc. natur. 1897.

3) Zentr. Bakt., 2. Abt., 9. 6—8.

4) K o c h s Jahresber. 1896. 90.

5) Ältere Literatur bei R a u m, Zeitschr. f. Hyg. 6. Vgl. außerdem Dieudonné, Arb. k. Gesundheitsamt 9, K r u s e, Zeitschr. Hyg. 19, 1895. Die Ergebnisse von B e c k und S c h e n k (K o c h s Jahresber. 1893. 53) und S c h u l t z (Zeitschr. f. Hyg. 23) sind mit Vorsicht aufzunehmen. Spätere Arbeiten s. bei W i e s n e r, Arch. Hyg. 61.

völlig erklärte Stoffumwandlung, die in den Nährböden selbst unter der Belichtung entsteht.

Die nach R a a b, U l l m a n n u. a. bei Protozoen deutliche „photodynamische“ Wirkung in fluoreszierenden Lösungen ist bei Bakterien recht gering¹⁾. Dagegen scheinen die Enzyme stärker geschädigt zu werden (J o d l b a u e r und T a p p e i n e r).

§ 46. **Beeinflussung der Bewegungen durch physikalische Reize.** Da die Bewegungen für die Ernährung bedeutungsvoll sind, wollen wir hier auch die Beeinflussung der Bewegungen von Mikroben durch physikalische Reize kurz besprechen²⁾. Die Wachstumsrichtung kann durch die Schwerkraft, Druck, Strömungen und Berührungen, Wärme, Licht und Elektrizität beeinflusst werden. Bei den Fruchträgern der Schimmelpilze ist der Einfluß der Schwerkraft (G e o t r o p i s m u s) leicht nachzuweisen: sie wachsen nicht nur aufrecht, sondern richten sich nach Entfernung aus ihrer aufrechten Stellung wieder auf³⁾. Bei manchen strahlenförmigen Ausläufern von Bakterien, so z. B. beim Bact. Zopfi, glaubte man ähnliches beobachten zu können (B o y c e und E v a n s⁴⁾, Z i k e s⁵⁾), doch hat außer B e i j e r i n c k namentlich dessen Schüler J a c o b s e n⁶⁾ gegen diese Deutung der Erscheinungen Einspruch erhoben und sie durch Wirkungen elastischer Körper im Nährboden selbst (E l a s t i k o t r o p i s m u s) erklärt. S e r g e n t⁷⁾ und E i s e n b e r g⁸⁾ haben sich dem angeschlossen. Bei Pilzen hat man ferner Wachstumskrümmungen infolge Berührung mit festen Körpern (H a p t o t r o p i s m u s⁹⁾) bei Pilzen und Myxomyceten auch durch Wasserströme (R h e o t r o p i s m u s), und zwar teils von der gereizten Seite ab, teils nach ihr hin festgestellt. Der Empfindlichkeit mancher Fruchträger von Pilzen für Lichtstrahlen (§ 45) entsprechend zeigen sie nach H o f m e i s t e r, S t e y e r (a. a. O.) u. a. einen positiven P h o t o t r o p i s m u s. Nach O l t m a n n¹⁰⁾ ist dabei nicht die Richtung der Lichtstrahlen entscheidend, sondern der Unterschied der Helligkeit auf den beiden Seiten des Fruchträgers. Hier wie bei anderen Reizen gilt das W e -

1) Vgl. R e i t z, Zentr. Bakt. 45, 1908. Lit.

2) Vgl. B o h r e n s in L a f a r s Handb. techn. Mykol. 1. 466, 1905. Über Chemo-, Osmo-, Hydro- und Aërotropismus s. u. § 56.

3) S t e y e r, Reizkrümmungen usw. Leipzig, phil. Dissert. 1901.

4) Proceed. Roy. Soc. 54, 1893.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt., 11, 1903.

6) Ebenda 17. 53, 1907.

7) Annal. Pasteur 1907.

8) Zentr. Bakt. 48, 1908.

9) J ö n s s o n, Ber. bot. Ges. 1883, 512. S t a h l, Bot. Zeitg. 1884.

10) Flora 75, 1892 und 83, 1897.

ber sche Gesetz, nach dem die Reizschwelle wächst mit der Stärke des Reizes, unter dem der Organismus bereits steht. Auch ultrarote, d. h. Wärmestrahlen sollen Bewegungen veranlassen, doch bestreitet das S t e y e r, ebenso wie J a c o b s e n die von B e i j e r i n c k gefundene Wirkung der Wärme auf die Wachstumsrichtung des B. Z o p f i anders deutet (s. o.).

Ein Einfluß des Lichtes auf die Wachstumsbewegung der B a k - t e r i e n scheint nicht zu bestehen, dagegen macht sich ein solcher auf die f r e i e n B e w e g u n g e n derselben in gewisser Beziehung bemerkbar. So wird nach E n g e l m a n n ¹⁾ die Bewegung der P u r - p u r b a k t e r i e n erst durch Belichtung geweckt, durch Verdunkelung plötzlich zum Stillstand gebracht. Bei Bact. photometricum und einigen anderen Purpurbakterien ruft umgekehrt plötzliche Verminderung der Belichtung, nicht Verstärkung, heftige „Schreckbewegungen“ hervor; die Bakterien schlagen dabei eine rückläufige Bewegung von der unbelichteten Stelle aus ein und häufen sich an den belichteten an (P h o b o t a x i s). U l t r a r o t e S t r a h l e n w i r k e n a m s t ä r k s t e n p h o t o t a k t i s c h. Alle Bakterien werden durch stärkere Belichtung geschädigt und büßen dabei allmählich ihre Bewegungen ein. Anscheinend geschieht das schneller als sie absterben (W i e s n e r ²⁾). Bewegungen nach dem Lichte hin treten nach W i e s - n e r. ein, sollen jedoch passiver Art sein. Die positive T h e r m o - t a x i s, die S c h e n k ³⁾ bei Bac. prodigiosus und Staphyl. pyogenes (!) beobachtete, wenn er einen erwärmten Kupferdraht in einen hängenden Tropfen hineinbrachte, muß wohl anders gedeutet werden. Im übrigen beeinflußt die Wärme die Beweglichkeit ebenso erheblich wie das Wachstum. Z o p f ⁴⁾ fand dabei, daß die Bewegungen eines Bac. vernicosus noch bei Temperaturen (50°) fort dauerten, die keine Vermehrung mehr erlaubten. Nach L e h m a n n und F r i e d ⁵⁾ wird die „Kältestarre“ besser vertragen als die „Wärmestarre“. Durch die S c h w e r k r a f t sollen nach M a s s a r t ⁶⁾ einige Spirillen teils an die Oberfläche gelockt, teils in die Tiefe getrieben werden (vgl. aber Aërotaxis § 56). Sehr starker D r u c k lähmt die Beweglichkeit von

1) Pflügers Arch. 30, 1883, und 46, 1888; vgl. auch die Bestätigung bei W i n o g r a d s k y und M o l i i s c h § 209.

2) Arch. f. Hyg. 61. 68, vgl. § 45.

3) Zentr. Bakt. 14, 1893.

4) Beitr. Physiol. u. Morph. nied. Organism. 1892.

5) Arch. f. Hyg. 46, 1903. Hier und bei S t r i g e l l (Zentr. Bakt. 45. 298), Angaben über Schnelligkeit von Bakterien, die aber schlecht übereinstimmen.

6) Bull. Acc. Roy. de Belg., 1891.

Bakterien (Chlopin und Tammann § 44). Durch schwache Strömungen sollen Bakterien nach Roth¹⁾ zur Stromaufwärtsbewegung gereizt werden (Rheotaxis). Die Angaben über die Beeinflussung der Bewegungen von Pilzen und Bakterien durch elektrische Strahlen (Hegler, Steyer) und Ströme (Verworn²⁾, Lortet³⁾) lauten nicht übereinstimmend. Tote und lebende Bakterien werden wie anorganische Pulver nach Bill⁴⁾ vom elektrischen Strom fortbewegt und zwar in der oberen Schicht in wässrigen Aufschwemmungen nach dem positiven Pol, in der unteren nach dem negativen; in Bouillon soll sich die Strömung umkehren, in 1 prozentiger Peptonlösung fehlen oder später einsetzen.

§ 47. Schädigung durch eigene Stoffwechselerzeugnisse. Selbstvergiftung. Schon lange hat man beobachtet, daß das Wachstum der Kleinwesen in Reinkulturen früher oder später zum Stillstand kommt, daß diesem Stillstand des Wachstums mehr oder weniger schnell und vollständig das Absterben der die Kultur zusammensetzenden Keime folgt, ja, daß schon während des Wachstums sehr häufig ein Teil der früher gebildeten Individuen zugrunde geht⁵⁾ (§ 36 und 37). Die Ursache dafür hat man, abgesehen vom Nahrungsmangel in den Stoffwechselerzeugnissen der Mikroorganismen gesucht. So sah man, daß die alkoholische Gärung aufhörte, wenn 12—14% Alkohol gebildet waren, einerlei, ob noch Zucker in der Gärflüssigkeit vorhanden war oder nicht. Es lag nahe, die Konzentration des Alkohols dafür verantwortlich zu machen. Im großen und ganzen wurde diese Auffassung durch die Tatsache bestätigt, daß Alkoholzusatz, meist allerdings bei einem etwas höheren Prozentsatz, die Entwicklung der Hefe überhaupt aufhebt. Die einzelnen Heferassen sind verschieden empfänglich⁶⁾, *Mucor racemosus* vergärt den Zucker nur bis zu 3—4%, *Mucor stolonifer* nur bis 1,3%. Ähnlich liegen die Dinge bei anderen Gärungen, und zwar sind es hier gewöhnlich saure Erzeugnisse, die hemmen, z. B. weiß man, daß die Milchsäure- und Essigbakterien bei einem gewissen Gehalt ihrer Nährflüssigkeit an Milch- oder Essigsäure aufhören zu wachsen (§ 41); bei der sogenannten Buttersäuregärung sind die hem-

1) Deutsch. med. Woch. 1893, 15. Die Bewegungen, die Bakterien wie unbelebte feinste Körperchen im Darm entgegen der peristaltischen Bewegung nach oben einschlagen (s. Infektionslehre) müssen dagegen passiver Art sein.

2) Pflügers Arch. 46, 1889.

3) Compt. rend. ac. sc. 122. 892, 1896.

4) Zentr. Bakt. 26, 1899.

5) Über die sichtbaren Veränderungen dabei s. § 3 u. 9.

6) Vgl. Prior, Zentr. Bakt., 2. Abt., 1. 432.

menden Stoffe nicht so gut bekannt, erst recht nicht bei den verwickelten Eiweißgärungen, die wir als Fäulnis bezeichnen. Unzweifelhaft beteiligt sind bei der letzteren Stoffe, die die Alkaleszenz erhöhen (§ 41), zum Teil Amine, zum größten Teil aber wohl Ammoniak (Kap. IX). Auch die Harnstoffbakterien stellen ihre Wucherung ein, wenn sie ein gewisses, allerdings je nach der Art sehr ungleiches Maß von Ammoniumkarbonat gebildet haben (§ 195). Bei vielen Mikroorganismen sind die hemmenden Stoffwechselprodukte verschieden, je nach der Zusammensetzung des Nährbodens. So bilden die Typhus-, Ruhr-, Cholera- und gewöhnlichen Darmbakterien in Zuckerlösungen Säure, in zuckerfreien Ammoniak. Die Schimmelpilze häufen nach Nikitinsky¹⁾ bei Ernährung mit anorganischen Ammoniaksalzen die Säuren, bei Ernährung mit Alkalisalzen der organischen Säuren die Basen an. Daß wirklich sehr gewöhnlich von der Reaktion die Hemmung des Wachstums ausgeht, kann man häufig dadurch beweisen, daß die nachträgliche Abstumpfung der Säure oder des Alkalis die Entwicklung neu belebt oder das Vorhandensein säure- und alkalibindender Stoffe (kohlensaurer, phosphorsaurer, schwefelsaurer Kalk) von vornherein das Wachstum begünstigt. Doch hat auch das seine Grenze: trotzdem hört die Entwicklung früher oder später auf. Dann müßte man entweder an Erschöpfung des Nährbodens, also Entwicklungshemmung durch Nahrungsmangel (§ 37) oder an schädliche Stoffwechselprodukte anderer Art denken. Sirotinin²⁾ und Bitter³⁾ fanden in Flüggés Laboratorium, daß in den meisten Fällen die Erschöpfung der Nahrung neben der Reaktion eine ausschlaggebende Rolle spielt. Zusatz von neuen Nährstoffen und Neutralisierung gab daher den alten Kulturen die frühere Nährfähigkeit zurück. Doch haben sich mehrfach bei den Versuchen dieser und anderer Forscher Anzeichen dafür gefunden, daß besonders von einzelnen Bakterienarten außerdem noch andere wachstumshemmende Stoffe gebildet werden. Von vornherein scheint Erschöpfung des Nährbodens auszuschließen bei solchen Bakterien, die sehr spärlich wachsen und schnell in den Kulturen absterben. Kruse und Pansini⁴⁾ schlossen daher aus der Tatsache, daß Bouillonkulturen, auf denen Pneumokokken gewachsen und abgestorben waren, nach Herstellung der richtigen Reaktion und nach Impfung mit Pneumokokken kein neues Wachstum gestatteten, auf

1) Jahrb. wiss. Bot. 40, 1904.

2) Zeitschr. f. Hyg. 4. 282; vgl. v. Freudenreich, Ann. de micrographie 1889.

3) Über bakterienfeindliche Stoffe in Bakterienkulturen usw. — Habilitationsschrift Breslau 1891.

4) Zeitschr. f. Hyg. 11. 320, 1891.

das Vorhandensein giftiger Stoffe in diesen. Welcher Art diese waren, ließ sich nicht sagen. Im vorliegenden Fall waren sie jedenfalls *k o c h - b e s t ä n d i g*. Aus dem ebenfalls festgestellten Umstand, daß die Pneumokokken auf Agarröhrchen, auf deren Oberfläche sie eben ausgewachsen waren, nach Sterilisierung bei 100° regelmäßig gut gediehen, hätte man ferner folgern können, daß sich diese „Selbstgifte“ nur in älteren Kulturen, etwa durch Zerfall, der Kokken gebildet hätten. Ein solcher Zerfall ist gerade in älteren Bouillonkulturen sehr deutlich (vgl. Selbstverdauung § 9). Freilich hätte man damit wieder keine Erklärung für die Tatsache gehabt, daß die Pneumokokken auch auf der Agarfläche ebenso schnell wie in Bouillon absterben, also doch auch hier einer Vergiftung zu erliegen scheinen. Es wäre wichtig, diese Verhältnisse durch neue Versuche zu prüfen, wir selbst haben unsere Ergebnisse seinerzeit, eingedenk der Schwierigkeiten, die das Arbeiten mit Pneumokokken bietet, nur als vorläufige betrachtet. Diese Schwierigkeiten bestehen in der Empfindlichkeit der Pneumokokken gegen Schwankungen in der feineren Zusammensetzung der Nährböden, für die wir eine genügende Erklärung noch nicht haben. Warum wachsen sie z. B. in der einen Fleischbouillon trotz sorgfältigster Herstellung der geeigneten Reaktion viel schlechter als in der anderen? Warum bleibt oft jedes Wachstum auf den gewöhnlichen Nährböden aus? Ist auch hier das Vorhandensein von „Giften“ d. h. irgendwelcher schädlicher Stoffe¹⁾ dafür verantwortlich zu machen oder umgekehrt das zufällige Fehlen unbekannter, für das Wachstum dieser Bakterien nötiger, aber schon in kleiner Menge dazu ausreichender Nähr- oder Reizstoffe (§ 55)? Würden wir das letztere annehmen, so könnten wir wieder in der Erschöpfung des Nährbodens an diesen lebenswichtigen Stoffen eine Ursache der Wachstumsbehinderung in alten Kulturen suchen. Solange genaue Versuche über die Ernährungsphysiologie der Pneumokokken nicht vorliegen, können wir Bestimmtes über diese Möglichkeit nicht aussagen. Vorläufig möchten wir freilich nach den Erfahrungen, die in dieser Beziehung an anderen Bakterien, z. B. den mindestens ebenso empfindlichen Tuberkelbazillen gemacht worden sind, die zweite Hypothese, die mit dem Vorhandensein von Giften in nicht angehenden und absterbenden Pneumokokkenkulturen rechnet, für wahrscheinlicher halten. Welcher Natur diese seien, bleibt dabei, hier wie in anderen Fällen, dunkel. Gegen die schon von *N e n c k i*²⁾ geäußerte, namentlich aber von *W e r n i c h*³⁾ verfochtene und selbst zur Erklärung der erworbenen

1) Vgl. über das Vorkommen giftiger Stoffe in pflanzlichen Nährböden (Mehlauszügen) Anm. 1 auf Seite 166.

2) Journ. prakt. Chem., Mai 1879.

3) Virch. Arch. 78.

Immunität (s. u.) herangezogene Annahme, daß eine Wachstumshemmung durch die antiseptische Wirkung mancher bei der Eiweißzersetzung (Fäulnis § 168 ff.) entstehenden aromatischen Stoffe (Phenol, Phenyl-essigsäure, Hydrozimmtsäure, Skatol, Indol) bewirkt werden, hat S i r o t i n i n (a. a. O.) mit Recht angewendet, daß die Konzentration dieser Gifte in den Faulflüssigkeiten dazu viel zu gering sei. Immerhin kommen a r o m a t i s c h e Stoffe wohl als Hemmungsstoffe dort in Betracht, wo sie bei der Spaltung der Glykoside (Helicin, Arbutin) durch Schimmelpilze in größerer Menge entstehen (Nikitinsky, § 155).

Eine neue Auffassung über die Natur der Selbstgifte schien zunächst angebahnt zu sein durch die etwa gleichzeitig von G a m a l e i a, H a h n und G e r e t, E m m e r i c h und L ö w gemachte Beobachtung, daß in den Leibern auch solcher Mikroorganismen, die keine verdauenden Enzyme ausscheiden, derartige Stoffe (Endoenzyme, Nukleasen) gebildet werden und unter Umständen die Leiber selbst verdauen, ihre „Autolyse“ verursachen können. An anderer Stelle (§ 6—9) haben wir die einzelnen, in dieser Beziehung bisher festgestellten Tatsachen erörtert und dabei hervorgehoben, daß, abgesehen von dem sehr berechtigten Zweifel an der enzymatischen Natur der von E m m e r i c h und L ö w besonders wirksam gefundenen „Pyocyanase“ die Hauptfrage noch unentschieden ist, wodurch denn die Bedingungen für die Wirksamkeit dieser Fermente gegenüber den sie erzeugenden Mikroben gegeben wird. Um die Selbstverdauung hervorzurufen, bedürfen sie der Mitwirkung anderer das Leben schädigender Einflüsse, mögen sie nun bestehen in künstlichen physikalischen oder chemischen Eingriffen, z. B. in Erhitzung, dem Zusatz von Chloroform, oder sich unter natürlichen Bedingungen in den Kulturen selbst entwickeln. Man wird also entweder wieder zur Annahme von Selbstgiften greifen oder den Nahrungsmangel für das Verschwinden der normalen Hemmungen gegenüber den autolytischen Fermenten verantwortlich machen müssen. Neuere Untersuchungen der Frage schlossen sich an die Behauptung von E i j k m a n¹⁾ und die viel weitergehenden von C o n r a d i und K u r p j u w e i t²⁾, daß in Gelatine und Agarkulturen von Koli- und anderen Bakterien, nach den letzteren auch in Bouillonkulturen hitzeempfindliche, wachstumshemmende Stoffe (Autotoxine) nachweisbar seien, und daß diese z. B. das massenhafte Zugrundegehen der Bakterien im Dickdarm bzw. Kot verursachen. R o l l y³⁾, P a s s i n i⁴⁾, Ö b i u s⁵⁾

1) Zentr. Bakt. 37, 1904; 41, 1906; Deutsche med. Woch. 1907. 7.

2) Münch. med. Woch. 1905, 1861, 2164 und 2228.

3) Deutsch. med. Woch. 1906, 43.

4) Wien. klin. Woch. 1906, 21.

5) Mediz. Klin. 1906, 23.

und namentlich Manteuffel¹⁾ haben daran aber eine sehr berechtigte Kritik geübt und in den genannten Fällen das beobachtete Absterben bzw. die Entwicklungshemmung der Bakterien im wesentlichen teils durch Versuchsfehler, teils durch Nahrungsmangel erklärt. In nicht veröffentlichten Untersuchungen, die ich mit David an Ruhrbazillen anstellte (vgl. § 36 und 37), kam ich, obwohl ich ursprünglich der Annahme von Selbstgiften nicht abgeneigt war, zu einem ähnlichen Ergebnis. Remlinger und Nouri²⁾ wollen ebenso wenig von spezifischen Hemmungstoffen bei den von ihnen untersuchten Bakterien wissen (§ 48). Das schließt aber meines Erachtens nicht aus, daß in anderen Fällen derartige Stoffe doch gebildet werden. Zu den älteren Arbeiten (s. o.), die dafür sprechen, sind neuerdings noch die von Rahn³⁾ und Faltin⁴⁾ hinzugekommen⁵⁾. Immerhin haben sie wohl gegenüber dem Nahrungsmangel und den bekannten Stoffwechselerzeugnissen nur eine nebensächliche Bedeutung. Vielleicht entstehen sie, bzw. werden sie frei bei der Selbstverdauung und tragen ihrerseits wieder dazu bei, daß diese weiter um sich greift. Den Vorgang des Absterbens in den Kulturen könnten wir uns dann etwa in der Weise vorstellen, daß zunächst einzelne anspruchsvollere und empfindlichere Individuen ihr Wachstum wegen Nahrungsmangels und Anhäufung von Stoffwechselerzeugnissen einstellen, der Selbstverdauung verfallen, durch die dabei entwickelten Selbstgifte wieder andere Individuen in der Entwicklung hemmen und so fort. Ob diese Selbstgifte auch sonst mit Lipoiden etwas zu tun haben, wie es nach den bei der Pyocyranase gemachten Erfahrungen zu sein scheint (§ 7 und 8), wird man abwarten müssen⁶⁾.

§ 48. Schädigung durch fremde Stoffwechselerzeugnisse. Antibiose. Die eigenen Stoffe und Gifte sind es aber nicht allein, welche die Mikroorganismen schädigen, sondern auch die fremden. Es ist eine der allgemeinsten Erfahrungen, daß zwei oder mehrere Mikroben, die nebeneinander einen Nährboden bevölkern, sich nicht unbeeinflusst lassen, son-

1) Deutsche med. Woch. 1906, 11 und Zeitschr. f. Hyg. 57, 1907.

2) Soc. biol. 24. X, 1908.

3) Zentr. Bakt., 2. Abt., 16.

4) Zentr. Bakt. 1. Abt., 46, 1908.

5) Vgl. § 48.

6) Neuerdings haben Delbrück und seine Mitarbeiter (Zentr. Bakt. 2. Abt., 22, 116) aus Brennerihefe durch Ausziehen mit schwefelsäurehaltigem destilliertem Wasser ein für Bierhefe giftiges „Eiweiß“ dargestellt, das ebenso gewonnenen Stoffen in manchen Mehlauszügen (s. u. Anm. 1 auf S. 166) ähnelt.

dernd aß früher oder später die eine die andere überwuchert und schließlich unterdrückt. Ein einfache Erklärung für diesen „Antagonismus“ (de Bary¹), „Antibiose“ Ward²)) liegt auf der Hand, wenn die einzelnen Arten von Kleinwesen zwar ähnliche Ansprüche an die Nährstoffe stellen, aber sonst, z. B. was Reaktion, Sauerstoffzutritt, Temperatur betrifft, ungleiche Wachstumsbedingungen haben oder überhaupt in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit voneinander abweichen: diejenige Art, welche die günstigsten Verhältnisse vorfindet, wird dann den Sieg davontragen, weil sie schneller wächst und die Nährstoffe verbraucht, ehe ihr „Wettbewerber“ sich zur Entwicklung anschickt. So kommt es z. B. gewöhnlich in den sauren Nährböden, wenn Pilze und Bakterien miteinander streiten, zum Unterliegen und umgekehrt in alkalischen Böden zum Obsiegen der Bakterien (§ 41). So werden bei reichlichem Luftzutritt in einer vergärbaren Flüssigkeit Schimmelpilze und aërobe Bakterien die Hefenpilze überwuchern, bei einem völligen oder teilweisen Mangel an Sauerstoff die Hefe und anaërobe Bakterien die Oberhand gewinnen. So werden ferner in den üblichen Nährböden die langsam wachsenden Pest-, Diphtherie- und Tuberkelbazillen von den schneller wachsenden Saprophyten, Eitererregern usw. überflügelt und unterdrückt. Geringe Verschiedenheiten der Wachstumskraft können allenfalls durch verhältnismäßig größere Einsaat der langsamer wachsenden Art ausgeglichen werden. Je nach der Beschaffenheit der Nährböden sind dabei die Ergebnisse durchaus verschieden. So ist der Diphtheriebazillus eher siegreich in Löfflerschem Blutserum, der Pestbazillus auf Gelatineplatten, Gono- und Meningokokken auf Blutserum-, Influenzabazillen auf Blutnährböden. In diesen Beispielen handelt es sich gewissermaßen um einen ehrlichen Kampf, um einen Wettlauf, bei dem der schnellste gewinnt. Ein Kampf mit vergifteten Waffen beginnt aber, wenn die Mikroorganismen im Stoffwechsel Substanzen erzeugen, die den Gegner schädigen. Es sind das sicher größtenteils dieselben, deren nachteilige Wirkung auf ihre eigenen Erzeuger wir § 47 besprochen haben, also Alkohol, Säuren, Alkalien und die chemisch noch nicht näher bestimmten Selbstgifte. Bezeichnend ist aber, daß diese Stoffe der Regel nach viel wirksamer die Mitbewerber beeinflussen, als ihre eigenen Erzeuger. Außer der Hefe gibt es wenige Mikroorganismen, die den Alkohol, außer den Essigbakterien wenige, die die Essigsäure, außer den Milch- und Buttersäure-

1) Die Erscheinungen der Symbiose. Straßburg 1879.

2) Annals of botany 13. 549, 1899. Nach B e n e c k e (Lafars Handb. d. techn. Mykol. 1. 501, 1905.

bakterien wenige, die diese Säuren in solcher Menge vertragen. Dadurch schaffen sich die genannten Keime also den Wettbewerb anderer, wie auch die Beobachtung bestätigt, mit Erfolg vom Halse. Natürlich kommt es auch hier wieder auf das Mengenverhältnis der miteinander streitenden Kleinwesen an: allzu erhebliche Verunreinigungen mit fremden Bakterien vermögen die genannten Gärungserreger also nicht auszuschalten. Auch von den übrigen Selbstgiften geben *S i r o t i n i n* und *B i t t e r* (S. 157) an, daß sie manchmal gerade auf andere Keimarten kräftiger wirken. So hatte das Filtrat der *Pyocyaneus*kultur, nachdem es neutralisiert und durch Zufügen von Nährstoffen aufgefrischt war, viel stärkere entwicklungshemmende Eigenschaften für Milzbrandbazillen, Staphylokokken usw., als für den *Pyocyaneus* selbst¹⁾. Vom teleologischen Standpunkte aus hat man also ein Recht, manche Stoffwechselerzeugnisse der Mikroorganismen als Waffen im Kampfe ums Dasein zu betrachten. Ob freilich *W o r t m a n n*²⁾ im Recht ist, wenn er die stammesgeschichtliche Entwicklung der Gärung auf diesem Wege vor sich gehen läßt, ist eine andere Frage. In jedem Falle sind die antagonistischen Einwirkungen der Mikroorganismen aufeinander von großer Bedeutung für ihr Leben im toten Nährboden und für die Parasiten unter ihnen wahrscheinlich auch im lebenden Körper (s. u. § 51).

Die Absonderung von schädlichen Stoffwechselprodukten läßt sich auf verschiedene Art beweisen. Entweder sterilisiert man Reinkulturen der zu untersuchenden Keime, z. B. durch Hitze, Chloroform, und dgl. — die letztere Art ist die schonendere — oder entfernt aus ihnen die lebenden Bakterien durch Filtration (Porzellan, Kieselgur), Abkratzen der Oberfläche der Kultur, Absetzenlassen oder Ausschleudern der Flüssigkeit — wegen des Zurückbleibens von Stoffen in den Filtern vorzuziehen und zur sicheren Sterilisierung mit Chloroformzusatz zu verbinden — und prüft dann ihre Nährfähigkeit für gleiche und andere Mikroorganismen, indem man sie, nach Herstellung der passenden Reaktion mit oder ohne Zusatz von frischen Nährstoffen beimpft. Oder man impft die miteinander zu vergleichenden Bakterien, wenn sie sich durch ihre Gestalt oder Kolonieform oder auf andere Weise (Agglutination mit spezifischem Serum) leicht trennen lassen, gleichzeitig oder nacheinander auf flüssige Nährböden und stellt — wenn möglich durch Zählung — das Fortkommen der einzelnen Arten fest. Auf festen Nährböden kann man auch die Diffusionsfähigkeit der Bakterien-erzeugnisse benutzen, um deren Schädlichkeit zu beweisen, indem man die Impfungen neben- oder mit *E i j k m a n* (S. 159) übereinander vornimmt

1) *F a l t i n* (Zentr. Bakt. 46. 1—3, 1908) sah freilich in seinen Versuchen mit Streptokokken, Kolibazillen, *Pyocyaneus* u. a. bald die eigene, bald die fremde Art kräftiger gehemmt.

2) Berichte, K. Lehranstalt Geisenheim f. 1900—1901, S. 92 (bei *B e n e c k e* in Lafars Handb. 1. 331), vgl. über „Kampfenzyme“ auch *D e l b r ü c k* in Woch. Brauerei 1903, 269.

und nun das Wachstum verfolgt. Dabei muß freilich berücksichtigt werden, daß die Keime nicht bloß schädliche Stoffe an ihre Nachbarschaft abgeben, sondern, auch Nährstoffe aus ihr anziehen können. Umfangreiche Versuche über Wettbewerb von Keimen hat zuerst G a r r è ¹⁾ in dieser Weise angestellt und gefunden, daß der Bac. fluorescens putidus die Entwicklung des Typhusbazillus, Staphylococcus pyogenus, Pneumoniebazillus, der Rosahefe u. a. hemmt, während er wenig oder keinen Einfluß auf das Choleraspirillum, den Vibrio Finkler-Prior, die Bac. anthracis und mycoides hat. Umgekehrt ist der Typhusbazillus auch Antagonist des B. fluorescens, nach P a v o n e ²⁾ auch der Milzbrandbazillen. Oft beobachtet wurde die Überwucherung der Milzbrandbazillen durch Staphylokokken. Besonders kräftig fand v. F r e u d e n r e i c h ³⁾ die hemmende Wirkung der Stoffwechselprodukte von Bac. pyocyaneus, Bac. phosphorescens, cyanogenus, prodigiosus und Spiril. cholerae, während die der Typhus-, Milzbrand-, Hühnercholera- und Deneke's Spirillen geringe Wirkung zeigten. Der Bac. pyogenes foetidus (coli?) erwies sich schädlich nur einzelnen Bakterien (Cholera, Tetrigenus). Verhältnismäßig wenig empfindlich waren gegenüber den Stoffen anderer Bakterien der Milzbrandbazillus, Pyocyaneus, Prodigiosus und andere Saprophyten, sehr empfindlich der Rotz-, Hühnercholera-, Typhusbazillus und Micr. tetragenus. S i r o t i n i n (S. 157) studierte den Bac. fluorescens liquefaciens, Indicus, der Milchsäure, der Cholera, des Milzbrands und des Typhus, K i t a s a t o ⁴⁾ die Cholera- und Typhusbakterien, B i t t e r (S. 157) den Pyocyaneus und Schweinerotlaufbazillus, O l i t z k y ⁵⁾ den Bac. fluorescens liquefaciens, G a b r i t s c h e w s k y und M a l j u t i n ⁶⁾ und K e m p n e r ⁷⁾ wieder den Cholera- und Typhusbazillus in ihrem Verhältnis zu anderen Mikroben. Auf Einzelheiten gehen wir weiter nicht ein, zumal da die Angaben der Forscher sich öfters widersprechen. Auch in den umfangreichen Versuchen, in Flaschen oder „künstlichen Harnblasen“ (sich periodisch leeren den Flaschen), durch die F a l t i n (s. o.) den oft in den lebenden Harnwegen stattfindenden Bakterienwechsel zu erklären suchte, ergaben teilweise entgegengesetzte Befunde. Im allgemeinen entschied freilich das Mengenverhältnis darüber, ob die Staphylokokken durch Kolibazillen oder die Kolibazillen durch Staphylokokken überwuchert wurden. In den künstlichen Blasen konnte aber eine kleine Anzahl von Kolibazillen große Staphylokokkenmengen verdrängen. Andere Bakterien waren zu solcher Leistung nicht imstande, auch wenn sie in den Flaschenversuchen sich wirksam erwiesen. Nach dem Verfasser kommen für das Ergebnis neben der Menge und der ungleichen Wachstumsgeschwindigkeit noch die „hetero-antagonistischen“ Wirkungen von Stoffwechselerzeugnissen in Betracht, die er mit den „isoantagonistischen“ Selbstgiften (§ 47) identifiziert.

Als sehr wirksam nicht nur gegen die eigenen, sondern auch gegen fremde Bazillen haben sich in den Versuchen vieler Forscher besonders in konzentriertem Zustande als sogenannte P y o c y a n a s e (E m m e r i c h

1) Korresp. Schweizer Ärzte 1887.

2) Baumg. Jahresber. 1887, 406.

3) Ann. Pasteur 1888 und Ann. de micrographie 1889.

4) Zeitschr. f. Hyg. 6.

5) Baumgartens Jahresber. 1892, 473.

6) Zentr. Bakt. 13. 780.

7) Ebenda 17.

und Löw, § 7) die von dem *Bac. pyocyaneus* gebildeten eigentümlichen Stoffwechselprodukte erwiesen.

Sehr kräftig wirkt auch der von L o d e¹⁾ beschriebene *Micrococcus antagonisticus*, der das Wachstum aller möglichen Bakterien hindert. Das Filtrat seiner Kultur ist wirksam auch nach Neutralisierung; Kochtemperatur zerstört es aber. Die neuerdings vielfach im großen hergestellten keimfreien Hefepräparate entfalten nach L e d e r m a n n und K l o p s t o c k²⁾ ein energisches bakterizides Vermögen gegenüber Staphylokokken, Typhus- und Kolibazillen, während lebende Hefe in Mischkulturen nach N o b é c o u r t³⁾ Bakterien allerart ziemlich schwach beeinflusst. Der Konkurrenzkampf der Hefearten und -rassen sowie der Hefen und Bakterien untereinander ist viel studiert worden, weil er für die Praxis der Gärungsgewerbe große Bedeutung hat (s. Krankheiten des Bieres und Weines § 94 und 95). Von dem Mengenverhältnis, in dem die konkurrierenden Arten bei der Einsaat zueinander stehen, von der Temperatur, aber auch von der Dauer des Kulturversuchs hängt der schließliche Erfolg ab (vgl. S y r é e⁴⁾).

Über gegenseitige schädliche Beeinflussung von Schimmelpilzen berichten R e i n h a r d t⁵⁾ und W e h m e r⁶⁾. Nach letzterem ist schon eine Spore des *Penicillium luteum* imstande, auf *Citromyces*rasen zur Entwicklung zu kommen und sich unter Abtötung des *Citromyces* auszubreiten. Wir haben damit Zustände, die an Parasitismus erinnern, weil hier die Ernährung des zweiten Mikroben auf Kosten der Leibessubstanz des ersten zu erfolgen scheint. Das Auftreten von verunreinigenden Kolonien auf oberflächlichen Bakterienkulturen gehört vielleicht ebenfalls hierher (vgl. aber § 50).

Schon früh hat man Beobachtungen gemacht, die dafür sprechen, daß der Antagonismus auch bei Parasiten eine Rolle spielt, indem ein Infektionserreger oder ein harmloser Parasit den anderen verdrängen kann. Ja, man hat daraus in den Versuchen mit der sogenannten „Bakteriotherapie“ die praktischen Schlußfolgerungen gezogen. Die auch im Reagenzglas erprobten eben erwähnten Pyocyanase- und Hefepräparate, ferner die durch ihre kräftige Säurebildung ausgezeichneten Yoghurtbazillen (*Bac. bulgaricus*, § 97) stehen dabei an erster Stelle. Näheres darüber in der Infektions- und Immunitätslehre.

Was die Natur der hemmenden Stoffe angeht, so kommen außer den bekannten Stoffwechselerzeugnissen im engeren Sinne sicher auch wohl noch andere nicht näher bekannte in Betracht, die vielleicht zu den in § 47 behandelten Selbstgiften in nächster Beziehung stehen. Insbesondere sind die Erfahrungen von L o d e, E m m e r i c h und Löw, Faltin dafür beweisend. Hierher gehören auch die Stoffe der (S. 160, Anm. 6) erwähnten Brennereihefe, und die eben besprochenen Hefepräparate. Die ersteren werden zu den Eiweißkörpern gestellt,

1) Zentr. Bakt. 33, 1903.

2) Ebenda Ref. 32. 21.

3) Soc. biol. 1900, 751.

4) Zentr. Bakt., 2. Abt., 5.

5) Jahrb. wiss. Bot. 23, 1891.

6) Beitr. z. Kenntn. einh. Pilze 1893, 1.

die letzteren zu den Fetten (vgl. Cerolin, S. 73). Der wirksame Stoff in der Pyocyanase scheint ebenfalls ein Lipoid zu sein (§8). Bei gewissen Versuchsanordnungen wird man aber, wie gesagt, daran denken müssen, daß die Beeinträchtigung hauptsächlich oder wenigstens zum Teil durch Erschöpfung der Nährstoffe seitens der antagonistischen Mikroben hervorgerufen wird. Daraus erklären sich denn auch die Beobachtungen, die R e m l i n g e r und N o u r i (S. 160) machten, wenn sie „vakzinieren Agar“, d. h. eine Agarfläche, auf der schon vorher andere Bakterien 5 Tage lang gewachsen waren, nach Entfernung der älteren Rasen neu beimpften. Am kräftigsten hinderte der Pyocyaneus, fast ebenso der Prodigiosus, dann Cholera- und Wasservibrionen das spätere Wachstum aller anderen Bakterien. Auf letzteren wuchsen z. B. nur Pyocyaneus und Prodigiosus. Am wenigsten oder gar nicht beeinflußten Rotz- und Diphtheriebazillen die spätere Einsaat; auf dem Diphtherieagar versagten nur Rotzbazillen. Immer wuchsen diejenigen Arten am besten auf schon benutzten Nährböden, die am besten vakzinieren. Von einer spezifischen Wirkung wäre danach keine Rede, sondern die Fähigkeit, möglichst reichliche Nährstoffe an sich zu reißen, entschiede über das Hemmungsvermögen.

§ 49. Förderung durch eigene Stoffwechselerzeugnisse.

Autobiose. Während der Regel nach die eigenen Stoffwechselprodukte der Mikroben auf ihr weiteres Wachstum schädlich wirken, gibt es auch Fälle, wo sie einen entgegengesetzten, also förderlichen Einfluß entfalten, wo man also von „Autobiose“ sprechen könnte. B u c h n e r ¹⁾ erwähnt z. B. von Cholerabazillen, daß sie in sterilisierten Kulturen, die schon zu ihrem Wachstum gedient haben, C a r n o t ²⁾, von Tuberkelbazillen, daß sie auf Nährböden, mit Tuberkulinzusatz, üppiger gedeihen. N i k i t i n s k y ³⁾ geht in einer seiner Arbeiten über *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* usw. sogar noch weiter und behauptet, daß ganz allgemein diese Pilze besser in ihren eigenen Stoffwechselprodukten wachsen, vorausgesetzt, daß für Ersatz der verbrauchten Nährstoffe gesorgt und Anhäufung von Säuren, Alkalien und giftigen, z. B. aromatischen Spaltungsprodukten vermieden werde. Das widerspricht denn doch den meisten übrigen Erfahrungen⁴⁾ zu sehr, um ohne

1) Münch. ärztl. Intelligenzbl. 1885. 50 (nach G o t s c h l i c h in K o l l e - W a s s e r m a n n s Handb. 1, 122).

2) Baumg. Jahrb. 1898, 473.

3) Jahrb. wiss. Bot. 40, 1904.

4) T h i b a u t, Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 1902, 20, findet bei der Hefe allerdings nicht regelmäßig ähnliche Verhältnisse. Über Selbstverdauung hemmende Körper vgl. I w a n o f f, § 92.

gründliche Nachprüfung angenommen, namentlich auch auf die Verhältnisse der Bakterien ausgedehnt zu werden. Bei den letzteren beobachtet man unseres Erachtens nur dann regelmäßig eine, außerdem zeitlich beschränkte, Begünstigung durch vorhergehendes Wachstum oder besser gesagt durch Einbringen von Kulturerzeugnissen in denselben Nährboden, wenn dieser vorher gewisse hemmende Wirkungen entfaltet, die auf dem Vorhandensein von Wachstumsgiften¹⁾, einschl. der sog. Desinfizientien (Antiseptika) in den toten Nährböden oder „Alexinen“ im Blutserum und lebenden Körper (vgl. § 51) beruhen. Wie der Zusatz von Kulturprodukten, wirkt die Einsaat großer Mengen. Daß dem so ist, hat man schon früher bei Desinfektionsversuchen und Alexinprüfungen oft beobachtet, und die Erklärung dafür liegt allem Anschein nach darin, daß das desinfizierende Mittel wie das Alexin von den Leibesbestandteilen oder den Absonderungen der Mikroben absorbiert, bzw. neutralisiert wird. Im Falle der Alexine haben wir uns daran gewöhnt, von „Aggressinen“ oder Angriffsstoffen der Bakterien zu sprechen, ohne freilich einen bestimmten chemischen Begriff damit verbinden zu können. Die Berechtigung dazu schöpfen wir hauptsächlich daraus, daß eine und dieselbe Bakterienart gegenüber den Alexinen ungleiche Widerstandsfähigkeit besitzen kann, daß dieselbe mit einem größeren oder geringeren Gehalt von Aggressinen verbunden ist und daß schließlich eine gewisse Spezifität der Aggressine besteht (Kap. XVII).

Die Aggressine mit den Kulturstoffen, welche die übrigen Wachstumsgifte neutralisieren, einfach zu identifizieren, geht nicht an, da Aggressivität und Widerstandsfähigkeit gegen Desinfizientien gewöhnlich nicht miteinander parallel gehen. Über ihre chemische Natur wissen wir ebenfalls noch fast gar nichts; sie einfach den Eiweißkörpern zuzurechnen, weil auch die letzteren imstande sind, den Mikroben in gewissen Grenzen Schutz vor den Desinfektionsmitteln zu verleihen, ist wohl nicht erlaubt. Die ganze Frage verdiente, im Zusammenhang mit derjenigen nach der Widerstandsfähigkeit der Mikroben gegen die Desinfektionsmittel genauer behandelt zu werden. Ob übrigens die Neutralisierbarkeit der absichtlich dem Nährboden zugesetzten und in ihrer chemischen Natur bekannten Antiseptica durch Bakterienstoffe und die vielfach nachgewiesene

1) Dahin gehören z. B. eigentümliche Hemmungen in unserer gewöhnlichen Nährbouillon, die namentlich bei Züchtung empfindlicher Bakterien (z. B. Pneumokokken, Tuberkelbazillen S. 158) hervortreten, und die an-

Möglichkeit, die ihrer Natur nach unbekannten Wachstumsgifte in vielen Nährböden durch reichliche Einsaat zu beseitigen, auf ähnlicher Grundlage beruht, wäre ebenfalls noch festzustellen.

Man hat freilich versucht, die letztgenannten alltäglichen Beobachtungen auf andere Weise zu erklären, indem man entweder annahm, mit den größeren Bakterienmengen übertrüge man nur gewisse für das Wachstum nötige Nährstoffe oder zum Wachstum anregende Reizstoffe (§ 55), oder unter der großen Zahl von verimpften Keimen befänden sich auch einige Exemplare, die befähigt wären, allein für sich die Wachstumswiderstände zu überwinden, Vorläufig ist es uns aber wahrscheinlicher, daß hier in erster Linie eine antidesinfizierende, giftneutralisierende Fähigkeit der Bakterienstoffe und Leiber als Ursache der Wachstumsbegünstigung in Frage kommt, denn, wenn man dieselbe Bakterienmenge auf größere Mengen des Nährbodens verteilt, bekommt man kein Wachstum. Selbst in künstlich zusammengesetzten ganz einfachen Nährlösungen kann sich ein hemmender Einfluß bemerkbar machen, weil das Lösungsmittel (destilliertes Wasser), die Nährsalze oder die Kulturgefäße unter Umständen Spuren von giftigen Beimengungen enthalten (F i c k e r). So haben wir wohl nicht nötig, die von W i l d i e r ¹⁾ gemachte und von A m a n d ²⁾ bestätigte Beobachtung, nach der Hefe in Nährlösungen mit Ammoniaksalz als Stickstoffquelle nur gedeiht, wenn man große Mengen einimpft, durch die Miteinimpfung eines besonderen, „Bios“ genannten stickstoffhaltigen Nährmittels in der Hefe zu erklären ³⁾.

Zweifelhaft ist es zunächst, wie wir die Entstehung der sogenannten „sekundären Kolonien“ erklären sollen, die Germano und Maurea ⁴⁾,

scheinend durch langes Stehen oder häufiges Sterilisieren verstärkt werden. Neuerdings hat man auch in Pflanzenstoffen, z.B. Getreidemehlen, namentlich Weizenkleber, eiweißartige Gifte nachgewiesen (L a n g e, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt., 21. 88, H a y d u c k ebenda). Auch die sogenannte Bodenmüdigkeit führt man auf Giftwirkungen zurück (H i l t n e r). Die Gifte sollen sich durch Kalk- oder Magnesiumsalze neutralisieren lassen.

1) Cellule 18. 313, 1901; K o c h s Jahresber. 1901, 133.

2) Cellule 20. 225, 1902.

3) Vgl. die Kritik von W i n d i s c h und H e n r y in Kochs Jahresbericht 1902, 247 ff. Eine ähnliche begünstigende Wirkung wie die eigenen konnten auch fremde Keime ausüben. Vgl. K o s s o w i c z in Kochs Jahresber. 1903, 214. Die Versuche R a h n s (Zentr. Bakt. 2. Abt., 16. 241, 1906) brachten zwar keine völlige Aufklärung, aber auch keinen Gegenbeweis gegen die Annahme giftiger Bestandteile in mancher Bouillon und giftwidriger Kräfte in den Bakterien.

4) Zieglers Beitr. 12. 520, 1892.

Preiß, Selter¹⁾, Eisenberg²⁾, Ernst³⁾, auf alten Agarkulturen von Koli-, Milzbrand- und allen möglichen anderen Bakterien auftreten sahen. Im Falle von Massini⁴⁾ erschienen sie sogar schon am 3. Tage als rote Knötchen in den weißen Kolonien des *B. coli mutabile* auf Endoplaten (vgl. § 353). Unwillkürlich denkt man dabei zunächst an Verunreinigungen, die ja auch gelegentlich sich ähnlich bemerkbar machen. Davon war aber in den genannten Fällen keine Rede. Die Vermutung liegt nahe, daß die durch Selbstverdauung zerfallenen Bakterien einzelnen übrig gebliebenen von neuem zum Nährboden dienen. Nebensächlich ist es hier für uns, ob die sekundär wachsenden Keime, wie im Falle von Massini, veränderte Eigenschaften gegenüber den primären besitzen, oder wie in den übrigen Fällen keine Abweichung zeigen, die Hauptsache ist vielmehr die größere Widerstandsfähigkeit bzw. Wachstumskraft einzelner Individuen der Kultur und die Nährfähigkeit der Zerfallsstoffe. Vielleicht erklären sich in ähnlicher Weise die früher erwähnten (S. 132) periodischen Keimschwankungen, die Berghaus, Riemer und auch wir in Bouillonkulturen beobachteten.

§ 50. Förderung durch fremde Stoffwechselerzeugnisse. Symbiose und Metabiose. Wie die Mikroben auf die früher beschriebene Weise nicht bloß ihr eigenes Wachstum hemmen (§ 47), sondern auch das der fremden (§ 48), so gilt das gleiche auch für die wachstumsfördernden Einflüsse (§ 49); mit anderen Worten: dem Antagonismus, der Antibiose, entspricht die „Symbiose“ der Mikroorganismen. Man scheidet mit Garrè (S. 163) zweckmäßig die „Metabiose“, das Nacheinanderleben, bei dem ein Organismus dem anderen den Nährboden vorbereitet, bei welcher also die Wucherung der beiden Mikroben zeitlich aufeinander folgt oder nur teilweise zusammenfällt, von der eigentlichen Symbiose, dem wirklichen Zusammenleben. Die Beziehungen können dabei mehr oder weniger innige und regelmäßige (konjunkte und disjunkte Symbiose Pfeffers) und gegenseitige oder einseitige sein. Eine Metabiose findet z. B. statt, wenn Aërobier den Sauerstoff im Nährboden so weit verbrauchen, daß Anaërobier darin wachsen (§ 31), wenn Milchsäurebakterien so viel Säure erzeugen, daß Schimmelpilze gedeihen, wie es auf jeder Milch, die einige Zeit steht, geschieht, wenn umgekehrt Schimmel- oder Sproßpilze die Säure der Nahrung so weit verzehren, daß Bakterien zum Wachstum gelangen. Ein schönes Beispiel wieder-

1) Zentr. Bakt. 37, 1904.

2) Ebenda 40.

3) Virch. Arch. 152. 432.

4) Arch. f. Hyg. 61. 14.

holter Metabiose erwähnt L a f a r. Wenn die Weinhefe aus dem Most genug Alkohol erzeugt hat und jetzt reichlich Sauerstoff zum Wein Zutritt, entwickeln sich die Essigbakterien und verbrennen den Alkohol zu Essigsäure. In der sauren Flüssigkeit siedeln sich Schimmelpilze an und verbrauchen die Säure. Diese wieder werden von Fäulnisbakterien abgelöst, die den Rest der organischen Stoffe zerstören. In dieselbe Gruppe von Erscheinungen fallen die sogenannten Sekundärinfektionen, die man bei Tieren entstehen sieht, welche primäre Infektionen (wie Typhus, Diphtherie, Scharlach, Masern, Tuberkulose) so geschwächt haben, daß sie auch anderen Mikroben, die sonst mehr oder weniger unschädlich für sie wären (Pneumo-, Staphylo- und Streptokokken, Diphtherie-, Tuberkel- und Influenzabazillen, Fäulnisbakterien) nicht den gewöhnlichen Widerstand mehr leisten können (§ 51). Wie „sekundäre Kolonien“ derselben Art auf alten Kulturen von Bakterien sich entwickeln können (S. 167), so können auch Kolonien einer fremden Art, Bakterien und Pilze, als „Verunreinigungen“ auf ihnen aufschießen. Auch hier macht es den Eindruck, als ob sich die nachträglichen Ansiedler geradezu von der Leibessubstanz der ersten ernährten. Wir haben damit einen Übergang zum Parasitismus.

Beispiele innigen und regelmäßigen Zusammenlebens bieten außer den Pilzen, die mit Algen die F l e c h t e n zusammensetzen, Alkoholhefen und Säurebakterien im Kefyr, Mazun und Leben (§ 82), im Weißbier, Ingwerwein, Sauerteige usw. (§ 111), die Symbiose von anderen Mikroben mit dem stickstoffassimilierenden *Azotobacter chroococcum* in stickstofffreien Nährlösungen¹⁾, von Bakterien und Hefe mit freilebenden Amöben und Flagellaten²⁾, die Mischinfektion mit Spießbazillen und Spirochäten bei der Vincentschen Angina, von Bakterien und Protozoen bei der Flagellatendiphtherie und Amöbendysenterie, von Chlamydozoen und Streptokokken beim Scharlach, von mehreren Bakterien bei der Diphtherie, Bazillendysenterie und anaëroben Infektionen, (vgl. Infektionslehre). Experimentell glaubte M e t s c h n i k o f f ³⁾ die alte Lehre N ä g e l i s von der „diblastischen“ Entstehung der Cholera dadurch zu stützen, daß er jüngere Kaninchen und Meerschweinchen gerade durch gleichzeitige Verfütterung von anderen Keimen (weißer Hefe, Sarcine, Kolibazillen) am leichtesten infizieren konnte. Auf künstlichen Nährböden fand er in der Wachstumsbegünstigung der Cholerabazillen durch solche fremde Keime ein Gegenstück dafür.

1) Gerlach und Vogel, Zentr. Bakt., 2. Abt., 10. 20/21, vgl. § 203.

2) Zaubitzer, Arch. f. Hyg. 40; Mouton, Annal. Pasteur 1902, 7; Tsujetani, Zentr. Bakt. 24. 666; Chrzaszcz, Zentr. Bakt., 2. Abt., 8. 431, 1902. Vgl. auch Potts, Flora 91, 1902.

3) Annal. Pasteur 1893. 547 ff., vgl. Infektionslehre.

Auf Erfahrungen bei künstlicher Züchtung beruhen die Feststellungen *Turròs* ¹⁾ über das üppige Wachstum von Streptokokken in lebenden Cholera-, Milzbrand- und Pyocyaneuskulturen, *Sanarelli* ²⁾ über die Symbiose seines *Bac. icteroides* mit Schimmelpilzen, *Grabbergers* ³⁾, *Cantanis* ⁴⁾ u. a. ⁵⁾ über die Begünstigung der Influenzabazillen durch lebende und tote Staphylo- und Gonokokken, Diphtherie und Xerose-, Koli- und *Prodigosus*bazillen, über die Wachstumsbeförderung der Kolonbazillen, Staphylo- und Streptokokken durch Filtrate oder Auszüge aus Tuberkelbazillen (*Korczynski* ⁶⁾).

Die Erklärung der Symbiose könnte wieder in verschiedener Richtung gesucht werden, nämlich einerseits in der ein- oder gegenseitigen Zuführung von Nähr- oder Reizstoffen, andererseits in der Zerstörung oder Neutralisierung wachstumshemmender Einflüsse. Wahrscheinlich kommt beides vor und wahrscheinlich haftet in beiden Fällen die Wirkung an Stoffwechselerzeugnissen oder an Leibesbestandteilen der Mikroben. Dahin gehören die neutralisierenden Leistungen der sauren oder alkalischen Absonderungen, die nährenden des Alkohols und der Essigsäure, die reduzierenden der Bakterienleiber (S. 106), die giftneutralisierenden und aggressiven (§ 49) der Bakterienstoffe.

Man beobachtet bei den zusammenlebenden Mikroorganismen nicht selten neue Leistungen, die sich aus den Fähigkeiten der einzelnen Arten nicht einfach ergeben. So verwandeln nach *Rolly* ⁷⁾ Fäulnisbakterien in Symbiose die Reaktion von saurem Fleischsaft oder Peptonlösungen in alkalische, während die rein isolierten Bakterien dazu nicht imstande sein sollen. *Nencki* ⁸⁾ fand, daß der Rauschbrandbazillus mit dem *Micrococcus acidi paralactici* zusammen zuckerhaltige Nährlösung bedeutend schneller vergärte und außer den Produkten, die aus den Reinkulturen bekannt sind (Wasserstoff, Kohlensäure, normale Buttersäure, inaktive und aktive Milchsäure), auch noch Butylalkohol erzeugte (§ 115). Noch überraschendere Ergebnisse zeitigt nach *Burri* und *Stutzer* ⁹⁾ die Symbiose des *Bact. coli* und *Bac. denitrificans* I in Salpeterbouillon. Während keines von beiden Bakterien allein imstande ist, aus Nitraten freien Stickstoff zu entbinden, tritt in der

1) Zentr. Bakt. 17, 1895.

2) Annal. Pasteur 1897.

3) Zeitschr. f. Hyg. 25, 1897.

4) Ebenda 36, 1901.

5) *Ghon* und *Preyß*, Zentr. Bakt. 32. 2, 1902; *M. Neißer*, Deutsche med. Woch. 1903, 25; *Luerssen*, Zentr. Bakt. 35. 4, 1904.

6) Wien. klin. Woch. 1905, 2.

7) Arch. f. Hyg. 41.

8) Zentr. Bakt. 11. 225.

9) Zentr. Bakt. 16. 815.

Mischkultur Entwicklung gasförmigen Stickstoffs auf (§ 198). Für die Erklärung dieser Tatsachen haben wir vorläufig noch keine genügenden Grundlagen. Zunächst wäre festzustellen, ob nicht die neuen Substanzen entstehen durch Einwirkung des einen Bakteriums auf die Stoffwechselprodukte des anderen. Wenn das ausgeschlossen wäre, könnte man vielleicht an einen Reiz denken, der von den Stoffwechselprodukten des einen auf die Tätigkeit des anderen Organismus ausgeübt würde. Sehr interessant ist, daß die Symbiose mehrerer Mikroben gelegentlich auch ein entgegengesetztes Resultat ergibt, eine Abschwächung statt einer Verstärkung. So sah N e n c k i, daß zwei Bakterien, die in Reinkulturen Eiweiß kräftig zersetzten, sich merklich in ihrer Gärintensität beschränkten, wenn sie in Mischkultur wuchsen. N e n c k i bezeichnet den Vorgang als „Enantibiose“ (vgl. § 48). Bei Hefen sind ähnliche Beobachtungen gemacht worden.

§ 51. Vergiftung und Infektion höherer Organismen. **Schädliche Parasiten.** Besondere Formen der Anti- und Symbiose sind diejenigen zwischen Mikroorganismen und höheren Lebewesen, Pflanzen und Tieren. Wir sprechen im ersteren Falle gewöhnlich nicht mehr von Antibiose oder Antagonismus, sondern erstens von Krankheitserregung durch Mikrobengifte (Vergiftung oder Intoxikation), wenn die Mikroben, z. B. Alkoholhefen, Wurstvergiftungsbazillen, nur dadurch den höheren Organismen schädlich werden, daß sie, ohne in ihnen selbst zu wachsen¹⁾, Absonderungen oder Leibesstoffe entwickeln, die bei Einverleibung giftig für jene sind, und zweitens von schädlichem Parasitismus oder Infektion, wenn die Mikroben dadurch, daß sie auf oder in den höheren Organismen wachsen, Krankheit erregen. Krankheit und unter Umständen Tod der „Wirte“ wird allerdings auch hier durch Giftstoffe bedingt, nicht oder nur ausnahmsweise²⁾ durch Nahrungsentziehung und nur nebenbei

1) Eine Nahrungsentziehung durch äußere Mikroben-tätigkeit, die man ebenfalls zu den schädlichen Mikrobenwirkungen rechnen müßte, trifft die höheren Organismen öfters — man denke an die Zersetzung vieler Nahrungsmittel durch Pilze und Bakterien —, ist aber selten für Pflanzen und Tiere, solange Giftwirkungen ausgeschlossen sind, verhängnisvoll. So können z. B. Wassertiere durch Sauerstoffentziehung in bakterienreichen Wässern geschädigt werden (Fischsterben in Flüssen mit Kanalauslassen).

2) Die Durchwucherung von Fliegen durch manche Algenpilze, von vielen Insekten durch Mikrosporidien, von Algen durch Schleimpilze (Z o p f), von Mukorineen durch parasitische Mitglieder derselben Gruppe (B r e f e l d, Bot. Untersuchg. über Schimmelpilze 1, 1872; 4, 1881) — von diesen und anderen Algenpilzen durch Chytridiaceen (Z o p f, Über einige niedere Algenpilze, 1887, A. F i s c h e r, Jahrb. wiss. Bot. 13, 1882) gehörten

etwa noch durch mechanische Störungen in einzelnen Organen¹⁾. Eine Nahrungsentziehung besteht natürlich bei den Parasiten stets, nähren sie sich doch gewöhnlich ausschließlich von den Leibern oder den Nahrungsstoffen ihrer Wirte, aber sie ist im allgemeinen wegen der geringen Masse der Parasiten zu vernachlässigen.

Die Natur der Mikrobengifte besprechen wir in einem besonderen Abschnitte dieses Bandes (Kap. XVI), ihre Wirkungen ausführlicher erst in der Infektionslehre. Hier wollen wir nur darauf hinweisen, daß wir den für die höheren Organismen giftigen Mikrobenstoffen kaum eine teleologische Bedeutung im Daseinskampfe der Mikroben zuschreiben dürfen. Was nützt das Wurstgift und die dadurch verursachte oft tödliche Krankheit des tierischen Körpers dem Bac. botulinus, das Wundstarrkrampfgift dem Bac. tetani, das Diphtherietoxin dem Diphtheriebazillus? Dem Wachstum außerhalb derselben sind sie ebenso wenig förderlich, weil sie bezeichnenderweise im Wettbewerb mit anderen Mikroorganismen und schon mit mikroskopischen Pflanzen und Tieren völlig versagen (vgl. Infektionslehre). Man kann die Gifte daher im allgemeinen nur als zufällige, für die Erhaltung der Mikrobenart wertlose Bildungen betrachten²⁾. Ein Teil der sogenannten Gifte, die entzündungs- und fiebererregenden, üben insofern sogar einen schädlichen Einfluß auf die Parasiten aus, als sie die Wirte zu heilkräftigen Gegenwirkungen anregen. Wir kommen weiter unten bei den „Reizstoffen“ der Parasiten (§ 53) darauf zurück. Ganz anders sind natürlich diejenigen Stoffe zu beurteilen, durch welche die Mikroben zum parasitischen Dasein und Wachstum befähigt werden, die ihre „Virulenz“ (Infektiosität) ausmachen. Wir haben sie Angriffsstoffe, Aggressine genannt, weil sie gegen die Abwehrkräfte, die wir wohl in allen lebenden Zellen annehmen müssen, und die besonders gründlich im Organismus der höheren Tiere studiert sind (Alexine, Oponine, Freßzellen usw.), gerichtet sind (§ 319 ff.). Sie fallen zusammen mit den schon früher erwähnten Aggressinen, die das Wachstum der Mikroben im alexinhaltigen Blutserum außerhalb des tierischen Körpers ermöglichen (S. 166).

Teilweise sind die Wirte der Parasiten selbst Parasiten und selbst Mikroorganismen. So findet man Bakterien oft in reichlichster Ent-

allenfalls hierher (vgl. Infektionslehre). Je kleiner die Wirte, um so mehr Bedeutung hat die Nahrungsentziehung.

1) Vgl. Infektionslehre. Bei den Bakterien- und Pilzinfektionen der Pflanzen spielen Organzerstörungen wohl die Hauptrolle.

2) Näheres § 257. Einzelne Stoffwechselgifte (§ 258) wie Alkohol, Oxalsäure machen wohl eine Ausnahme. Über die Bedeutung des Alkoholismus für die Hefe s. S. 178, Anm. 1.

wicklung innerhalb der Dysenterieamöben, der Myxo- und Sarkosporidien, in den Knoten der Lebercoccidien, der Plasmodiophora brassicae usw. (vgl. Infektionslehre).

§ 52. **Nützliche und harmlose Parasiten. Mutualismus und Kommensalismus.** Die Symbiose zwischen Mikroben und höheren Organismen wird als Mutualismus bezeichnet, wenn die Förderung eine gegenseitige ist. Sie ist nur eine Form des Parasitismus (nützlicher Parasitismus), da die niederen fast regelmäßig dabei auf oder in den höheren Organismen leben. Am besten bekannt ist das Verhältnis der stickstoffbindenden Bakterien der Wurzelknöllchen zu den Schmetterlingsblütlern (§ 201). In ausgedehntem Umfange bestehen auch symbiotische Beziehungen zwischen Bakterien (und Protozoen) und höheren Tieren (einschl. des Menschen) in deren Darm und auf deren anderen Schleimhäuten (Mund, Magen, Scheide), wenn wir darin auch noch nicht überall klar sehen (vgl. Infektionslehre). Zum Unterschied von den schädlichen Parasiten bilden die nützlichen keine Gifte oder werden wenigstens nicht durch sie gefährlich, weil die Wirte über giftwidrige Fähigkeiten verfügen, dagegen erzeugen sie vielleicht Stoffe, die wir weiter unten als „Reizstoffe“ näher betrachten werden (§ 53). Allein auf seiten der Mikroben scheint der Vorteil bei den harmlosen Schmarotzern. Zu diesen „Mitessern“ oder Kommensalen gehören namentlich Ektoparasiten, aber auch nicht wenige auf den Schleimhäuten, namentlich im Darm und schließlich selbst im Gewebe und Blut schmarotzende Mikroben aus der sonst pathogenen Gruppe der Sporozoen (Hämosporidien und Sarkosporidien) und Flagellaten (Trypanosomen) besonders bei kaltblütigen Tieren. Ob auch die Streptokokken der Schmetterlinge (Gräfin Linden) solche harmlose Parasiten sind, ist noch auszumachen. Jedenfalls sieht man vielfach Übergänge zwischen Kommensalismus, Mutualismus und Infektion. Das zeigt sich besonders bei den Blutparasiten. So verursachen die Rattentrypanosomen, die gewöhnlich harmlos sind, ausnahmsweise Krankheitserscheinungen in ihren Wirten. So kann ferner die Trypanosomiasis, Piroplasmose a. a. m. aus dem Zustand der akuten Infektion in den eines chronischen oder besser „latenten“ übergehen, in dem sich die Parasiten kaum von harmlosen Schmarotzern unterscheiden. Umgekehrt werden harmlose und selbst nützliche Parasiten durch Umstände, die die Widerstandsfähigkeit ihrer Wirte herabsetzen oder dadurch, daß sie zufällig an den unrichten Ort im Tierkörper gelangen, zu Infektionserregern (Selbstinfektion z. B. durch Pneumokokken, Koli-bazillen, vgl. Infektionslehre; Virulentwerden von Knöllchenbakterien, vgl. § 201).

Gemeinsam ist den drei Arten von Mikroben die Fähigkeit des

Parasitismus, d. h. die Wachstumswiderstände auf oder im lebenden Tier- und Pflanzenkörper zu überwinden. Man könnte geneigt sein, als Grundlage dieser Fähigkeit das von uns den Infektionserregern zugeschriebene Vermögen, Angriffsstoffe (Aggressine) zu bilden (s. o. S. 172) anzusehen. Freilich würde sich die Aggressivität der harmlosen und nützlichen Parasiten schon meist durch ihre Begrenztheit unterscheiden, indem sie nur dazu ausreicht, das Wachstum auf der äußeren oder inneren Körperoberfläche, nicht innerhalb der Gewebe, zu gestatten. Es müßten aber auch nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Unterschiede in der Beschaffenheit der Angriffsstoffe bestehen, denn die Aggressivität der Infektionserreger im Gewebe befähigt sie noch nicht ohne weiteres zum Wachstum auf den Körperoberflächen.

Da die Oberflächen des Tierkörpers mit Sekreten ausgestattet zu sein pflegen, die man als Schutzstoffe betrachten kann, liegt es nahe, daran zu denken, daß die harmlosen Schmarotzer nur die Eigenschaft erworben haben, in diesen Sekreten zu wuchern, somit durch ihre Angriffsstoffe die in ihnen enthaltenen Schutzstoffe zu neutralisieren. Leider wissen wir aber ebensowenig über die Beschaffenheit der Schutzkräfte der Sekrete, wie über die ihnen entsprechenden Angriffsstoffe und können nur sagen, daß die ersteren im allgemeinen weder mit den eigentlichen Schutzkräften des Gewebes noch mit den *V e r d a u n g s e n z y m e n* identisch sind. Denn Alexin, Opsonin, Freßzellen usw. fehlen in den normalen Sekreten und die Enzyme sind sogar wirkungslos gegenüber *a l l e n* lebenden Mikroben, nicht bloß gegenüber Parasiten. Auch andere Schutzstoffe sind bisher nur ausnahmsweise in Reagenzglasversuchen mit Sekreten nachgewiesen worden. Daraus folgt aber noch nicht, daß die *l e b e n d e n* Oberflächen der tierischen Körper der Schutzkräfte beraubt seien. Im Gegenteil haben wir allen Anlaß, solche anzunehmen (vgl. Infektionslehre).

Wichtig ist, daß den Parasiten, gleichgültig, ob sie dieser oder jener der drei Gruppen angehören, vielfach das Vermögen, in toten Nährböden zu wachsen, verloren gegangen, oder besser gesagt, bei ihnen beschränkt ist, und daß andererseits den meisten „Saprophyten“, d. h. den in toten Nährböden besonders gut gedeihenden Mikroben, die Fähigkeit, parasitisch zu leben, völlig abgeht oder nur unter bestimmten Bedingungen, z. B. bei Übertragung größter Mengen zukommt. Man spricht daher von *s t r e n g e n* (obligaten) und *g e l e g e n t l i c h e n* (fakultativen) *P a r a s i t e n* und *S a p r o p h y t e n*. Ein gewisser Gegensatz der Kräfte, die das saprophytische und parasitische Dasein möglich machen, besteht also und würde sich vielleicht dadurch erklären, daß im ersten Falle die enzymatischen, im zweiten die aggressiven Leistungen mehr entwickelt sind. Eine scharfe Abgrenzung von

Parasiten¹⁾ und Saprophyten läßt sich aber um so weniger aufrecht erhalten, als die Aggressivität bei einer und derselben Mikrobenart nicht bloß ungleich ausgebildet und auf einzelne Tierarten beschränkt sein, sondern sogar völlig verloren gehen kann, und umgekehrt scheinbar strenge Saprophyten an das parasitische Leben gewöhnt werden können (§ 356). Unseres Erachtens erklären sich diese Tatsachen durch unsere Aggressinlehre im allgemeinen leichter als durch irgendwelche andere Annahmen, die übrigens bisher noch nicht in eine brauchbare Theorie zusammengefaßt worden sind (vgl. § 329). Eine Ergänzung der Aggressinlehre in einzelnen Beziehungen wird dadurch, wie wir gleich sehen werden, nicht ausgeschlossen.

§ 53. Reizstoffe der Wirte und Parasiten. Gegenwirkungen. Ob die Wachstumsfähigkeit der Parasiten im Tierkörper allein durch ihre Fähigkeit, Angriffsstoffe zu bilden, bedingt ist, soll übrigens dahingestellt sein. Man könnte sich wohl vorstellen, daß auch der Wirt selbst hin und wieder durch Reizstoffe, die er enthält oder abgibt, die Parasiten anlockt und ihre Wucherung befördert. Wir würden damit der sogenannten Assimilationstheorie, d. h. der, die das Wachstum der Parasiten durch ihre Fähigkeit, den lebenden Nährboden zu assimilieren, erklärt, ein beschränktes Zugeständnis machen (§ 329). Bestimmte Beweise für das Vorkommen solcher Reizstoffe haben wir freilich kaum²⁾. Immerhin würden manche Tatsachen dadurch vielleicht eine einfache Erklärung finden. Namentlich die höchst eigentümliche Tatsache, daß manche harmlosen Schmarotzer und Infektionserreger mit Vorliebe bestimmte Organe befallen. Allerdings würden wir auch hier wieder ohne die Annahme spezifischer Beziehungen nicht auskommen. Denn die betreffenden Organe sind nicht überhaupt für Parasiten leichter angreifbar, sondern nur für einzelne Arten derselben, so daß jedes tierische Organ fast seine besonderen Parasiten hat. Setzen wir voraus, daß hierbei Reizwirkungen vorliegen, so würde den spezifischen Reizstoffen der Wirtsorganismen eine ebensolche Reizbarkeit der Parasiten entsprechen. Diese letztere würde dann voraussichtlich wieder eine bestimmte stoffliche Anlage voraussetzen (Nutri- oder Chemorezeptoren Ehrlichs?). Ehe die ganze Frage experimentell bearbeitet worden ist, wird man sich auf weitere Spekulationen nicht einzulassen brauchen.

1) Noch weniger läßt sich die von Bail (Lit. bei Aggressinen § 319) versuchte Einteilung der Parasiten in Ganz- und Halbparasiten durchführen, weil alle Übergänge vorkommen.

2) Ob die Chemotaxis und der Chemotropismus (§ 56), d. h. die Anlockung der Parasiten durch Bestandteile der Pflanzen für deren Infektion von Bedeutung ist, wie manchmal behauptet wurde, ist ebenfalls noch etwas zweifelhaft (vgl. Infektionslehre).

Sicher gestellt ist eine andere Reizwirkung der Wirte auf ihre Parasiten. Sie zeigt sich erstens darin, daß die Mikroben, und zwar Bakterien und Hefepilze, im tierischen Körper sich mit einer Schleimhülle (Kapsel) umgeben oder wenigstens — vielleicht ebenfalls durch „Hypertrophie ihres Ektoplasmas“ — eine Größenzunahme erfahren (§ 4), und zweitens in einer Steigerung ihrer Virulenz (§ 330). Die nähere Untersuchung dieser beiden Reihen von Vorgängen hat gezeigt, daß sie wahrscheinlich eng zusammen gehören und ausgelöst werden von den Abwehrstoffen (Immunkörpern) des normalen oder immunisierten Tierkörpers, bzw. von solchen Stoffen, die mit diesen Abwehrstoffen nahe verwandt sind. Man kann sich diese Reizwirkung, wenn man sich den Vorstellungen der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie anschließt, dadurch erklären, daß die Abwehrstoffe mit bindenden Gruppen in entsprechende Bindegruppen („Rezeptoren“) der Mikroben eingreifen und diese durch einen uns in seinem Wesen allerdings noch völlig dunklen Neubildungsprozeß zur „Hypertrophie“ oder „Hyperplasie“ bringen (§ 328). Die Folge davon ist größere Widerstandsfähigkeit, gewissermaßen „Immunität“, gegen die Abwehrstoffe, d. h. gesteigerte Virulenz.

Übertragen sind diese Vorstellungen aus einem anderen Gebiet, für das sie ursprünglich ausgedacht worden sind, nämlich aus der eigentlichen Immunitätslehre (§ 331 ff.). Schon lange kennt man die Tatsachen, daß Tiere durch Überstehen einer Infektion gegen die gleichen und fremden Infektionen Schutz erlangen. Hier sind es umgekehrt „Reizstoffe der Mikroben“, welche den Widerstand der Tiere gegen letztere erhöhen. Je nachdem die Reizwirkung eine nichtspezifische oder spezifische ist, sprechen wir von „Entzündungs- und Fieberstoffen“ oder von echten immunisierenden „Impfstoffen“ (Antigenen) und haben, wie wir oben die Reizstoffe der Tiere mit ihren Abwehrstoffen gleichstellten, auch hier allen Grund, die Reizstoffe der Kleinwesen mit ihren Angriffsstoffen im wesentlichen zusammenfallen zu lassen. Wir stehen hier vor den merkwürdigsten Tatsachen der Biologie. Zunächst macht es den Eindruck, als ob sich die Tiere durch ihre Abwehrstoffe, die Mikroben durch ihre Angriffsstoffe selbst ihr Grab bereiteten. Bei näherer Betrachtung verlieren die Immunitätserscheinungen indessen ihren auffallenden Charakter. Schon der Umstand, daß die heilkräftige Wirkung der Entzündung und des Fiebers mindestens eine Reihe von Stunden, die der spezifischen Immunisierung ebensoviel Tage oder Wochen nach Einverleibung der Reizstoffe eintritt, während die infektionsbegünstigende Wirkung der mit ihnen identischen Angriffsstoffe sich sofort bemerkbar macht und bald verschwindet, weist darauf hin, daß wir es bei den Immunitätsvorgängen mit einer Zeit erfordernden Gegenwirkung des Tierkörpers zu tun haben. Der Um-

stand ferner, daß lebende Infektionserreger nur in kleineren Gaben, die nicht oder nur vorübergehend zum Wachsen kommen, schützen und immunisieren, in größeren aber sich unaufhaltsam, d. h. bis zum Tode der Tiere, vermehren, lehrt uns, daß die Angriffsstoffe, in genügender Menge einverleibt, ihren Zweck zugunsten ihrer Erzeuger erfüllen. Das gleiche gilt aber auch von den Abwehrstoffen der Tiere: da, wo sie durch ihre Menge die angreifenden Mikroben erdrücken, dienen sie zum Schutz der ersteren. Die Virulenzhöhung, ebenso wie die Immunisierung, ist also nur eine Anpassung der Parasiten bzw. ihrer Wirte, die unter für sie günstigen Bedingungen erfolgt.

Die harmlosen und nützlichen Parasiten (§ 52) entbehren auch wohl nicht der Reizstoffe, durch deren Wirkung sie z. B. die Ernährung ihrer Wirte befördern¹⁾, und stehen andererseits unter dem Einfluß von Reizwirkungen seitens ihrer Wirte. Bezeichnend aber ist es für sie, daß weder die Parasiten durch ihr dauerndes Zusammenleben mit Tieren und Pflanzen ihr Wachstumsvermögen über das gewöhnliche Maß steigern, d. h. für sie virulent werden, noch die Wirte ihr Abwehrvermögen gegen die Gäste, die sie beherbergen, erhöhen, d. h. Immunität gegen sie erlangen. Vielmehr besteht gewissermaßen ein Gleichgewichtszustand zwischen den Kräften der Symbionten, der allerdings durch besondere Umstände — meist zum Schaden des Wirtes — gestört wird, wie S. 173 erwähnt wurde. Dort wurde gleichzeitig auch der umgekehrten Möglichkeit gedacht, daß nämlich Infektionserreger sich in ihrem Wirt zu harmlosen Schmarotzern verwandeln können. Die Umwandlung ist freilich nur eine scheinbare, weil die betreffenden Keime nur für das Tier, in dem sie sich befinden, ihre Gefährlichkeit verloren haben. Wir dürfen wohl annehmen, daß sich dabei eine Art Immunität entwickelt, die der Angriffskraft der Parasiten die Wage hält.

§ 54. Kleinwesen als Nahrungsspender und Erzeuger anderer nützlicher Stoffe. Während bei den bisher besprochenen verschiedenen Formen des Parasitismus, mag er schädlich, nützlich oder harmlos für die Wirte sein, die Mikroben stets einen mehr oder weniger großen Vorteil von ihren Beziehungen zum Wirt haben, weil sie auf

1) Vielleicht ist durch Anregung der Assimilation, nicht durch unmittelbare Assimilation des Stickstoffs bzw. Eiweißaufspeicherung, der Nutzen der Knöllchenbakterien für die Schmetterlingsblütler zu erklären (§ 201). Anregung des Wachstums bzw. der Blüte durch die Parasiten erfolgt auch bei vielen Pflanzen, z. B. bei den durch Pilze verursachten sog. Hexenbesen (vgl. v. T u b e u f, Pflanzenkrankheiten 1895). Es scheint sich hier nicht immer um Abwehreinrichtungen, wie bei den sog. infektiösen Granulationsgeschwülsten der Tiere (§ 332), zu handeln.

oder in ihm wachsen, gibt es andere Verhältnisse zwischen großen und kleinen Organismen, in denen von Parasitismus keine oder nur in sehr beschränktem Grade die Rede ist. Die Mikroben werden dabei entweder nur mittelbar als Erzeuger von allerhand nützlichen Stoffen beteiligt oder tragen sogar Nachteile davon. So benutzt der Mensch viele Stoffwechselprodukte von Gärungserregern oder die durch sie veränderten Grundstoffe als Nahrungs- und Genußmittel, Bekleidungsstoffe usw.¹⁾ Und so dienen Bakterien, Sproßpilze und Protozoen nicht nur Schleimpilzen und andern Protozoen, sondern auch gewissen mit Phagozyten im Darm ausgestatteten niederen Metazoen (M e t s c h n i k o f f ²⁾) zum Fraße. Auch die Phagozyten der höheren Tiere beseitigen ja so viele Infektionserreger. Man hat daher in dieser Art von Freßtätigkeit einen von den niedrigen Tieren überkommenen Rest der zellulären Ernährungstätigkeit sehen wollen. Außerdem gibt es auf den tierischen Schleimhäuten antiseptische Sekrete, z. B. Magensaft, und im Innern der Gewebe keimwidrige Säfte ((Alexine usw.), durch welche Saprophyten und Parasiten, die damit in Berührung kommen, aber vielfach auch die virulenten Parasiten abgetötet und mehr oder weniger vollständig gelöst werden (§ 10 u. 11). Ein reiner Vorteil ist das freilich nur dann für die Tiere, wenn nicht bei dem Zugrundegehen der Mikroben giftige Stoffe in Lösung gehen und von den Geweben aufgenommen werden. Demselben Schicksal zerfallen wenigstens zum Teil die Bakteroiden der Wurzelknöllchen (§ 201).

§ 55. Chemische Ernährungsreize. Aus der Physiologie der höheren Tiere wissen wir, daß es Reizmittel gibt, die bei ihnen den Appetit und die Sekretion der Verdauungssäfte, die Assimilation, den Stoffansatz und die Zellvermehrung anregen, Gifte, die diese Vorgänge hemmen und schließlich Schutzeinrichtungen, die den Giften entgegenwirken. Es fragt sich, ob solche Einflüsse auch bei den Mikroorganismen im allgemeinen wirksam sind. Nötig scheinen E r n ä h r u n g s r e i z e allerdings den Mikroorganismen insofern nicht, als sie nicht wie die höheren, namentlich warmblütigen Tiere zur periodischen Nahrungsaufnahme gereizt zu werden brauchen, da sie, stets von Nährflüssigkeit umgeben, die Ernährung unter sonst günstigen Bedingungen überhaupt nicht unterbrechen. Doch wissen wir, daß die Mikroorganismen eben nicht immer unter günstigen Ernährungsbedingungen stehen, ferner, daß sie oft auf bestimmte Nährstoffe angewiesen sind, sich diese also

1) Insofern diese Gärungen künstlich hervorgerufen werden, haben freilich auch die Mikroben einen Vorteil davon, weil ihnen reichlichere und günstigere Daseinsbedingungen und sichere Erhaltung gewährt werden.

2) Vgl. Infektionslehre.

aus einem Nahrungsgemisch gewissermaßen heraussuchen müssen, daß sie auch ebenso wie die Tiere Verdauungsenzyme erzeugen und ausscheiden und auf physikalische Einflüsse ihrer Umgebung (§ 42—45) durch Beschleunigung oder Verlangsamung ihres Wachstums antworten. Wir dürfen danach von vornherein vermuten, daß es auch für sie chemische Ernährungsreize gibt.

Die Nahrungsstoffe, einschließlich des Sauerstoffs, wirken im allgemeinen wohl selbst als Reize. Bei zu großer Verdünnung sind die Reize unwirksam; bis zu einer gewissen Dichtigkeit steigern sie die Ernährungsvorgänge; bei zu großer Dichtigkeit hemmen sie schließlich (§ 40). Wiederholt untersucht wurde die Produktion und Sekretion der Verdauungsenzyme. Die Tatsachen, die darüber bekannt sind, widersprechen sich allerdings teilweise. Einerseits wird behauptet, daß die Enzyme gebildet und ausgeschieden werden, auch ohne daß sie in Tätigkeit treten können — bei Abwesenheit der zu verdauenden Stoffe —, andererseits sollen sie erst erscheinen, wenn sie gebraucht werden (vgl. § 35, 69, 165 und 250). Es darf wohl angenommen werden, daß es sich nur um quantitative Unterschiede handelt, denn daß die Enzymmenge größer wird mit steigendem Verbrauch, lehren viele Erfahrungen. Darauf sind ja die Darstellungsmethoden der Enzyme gegründet. Bemerkenswert ist die Regulierung der Enzymproduktion durch Stoffe, die nicht direkt die Enzyme beeinflussen können. Nach K a t z ¹⁾ wird die Diastasebildung von Schimmelpilzen und Bakterien beschränkt durch Zuckerlösungen von verhältnismäßig geringer Konzentration, z. B. bei *Penicillium glaucum* durch Trauben- und Rohrzucker von 1,5%, durch Milch- und Malzzucker von 3%, durch Glyzerin, Weinsäure und Chinasäure erst in höherer Konzentration. Man könnte daraus schließen, daß eine Hemmung der Diastasebildung etwa dann einträte, wenn solche Stoffe, die durch Diastase erzeugt werden, schon vorhanden seien, und daß andere Stoffe, auch wenn sie gute Nährstoffe seien, doch keine Hemmung der Diastasebildung zustande brächten. Doch ergeben Versuche mit *Aspergillus niger* ganz andere Resultate: Rohrzucker und andere Stoffe bewirken hier selbst in starker Konzentration keine Hemmung der Diastaseproduktion. Beim *Penicillium glaucum* machte K a t z übrigens die interessante Beobachtung, daß durch Peptonzusatz die hemmende Wirkung des Rohrzuckers auf die Diastasebildung aufgehoben wurde. Wir werden bei Besprechung des Wahlvermögens der Mikroorganismen auf manche andere vorläufig unerklärliche Tatsache stoßen (§ 58).

Es braucht kaum daran erinnert zu werden, daß, je nach der Art

1) Jahrb. wiss. Bot. 31; vgl. § 69.

der Mikroorganismen, die Nährstoffe bald als Reiz, bald als Hemmung wirken. Beispiele dafür sind die verschiedene Wirkung des Sauerstoffs auf Aërobier und Anaërobier (§ 31), der freien organischen Säuren auf Pilze und Bakterien (§ 50 und 149), des Alkohols auf Bakterien und Pilze, die von ihm leben und solche, die es nicht können (§ 134 und 135), der organischen Stoffe auf die meisten Mikroorganismen im Gegensatz zu den Nitrobakterien (§ 196).

Den Nahrungsstoffen schließen sich an die aus ihnen erzeugten Stoffwechselprodukte. Von ihnen sind am besten studiert diejenigen, welche die Reaktion des Nährbodens beeinflussen, insofern man wenigstens weiß, daß jedem Mikroben ein bestimmtes Optimum der Reaktion entspricht (§ 41). Im übrigen kennt man viel besser die Hemmungs- als die Reizwirkungen, die von den einzelnen Säuren, dem Alkohol u.s.w. ausgehen. Was darüber festgestellt worden ist, soll unten im Zusammenhang mit der Reizwirkung der giftigen Stoffe besprochen werden. Die in den früheren Abschnitten (§ 49 und 50) behandelte Wachstumsförderung durch eigene und fremde Stoffwechselerzeugnisse der Mikroben erklärt sich teils aus der Wirkung unbekannter Reizstoffe, teils aus der Veränderung der Reaktion oder der Lieferung von Nährstoffen. Wegen der eigentümlichen Reizstoffe, die wir in höheren Organismen für die parasitären Kleinwesen voraussetzen dürfen, verweisen wir auf § 53.

Daß es außer Nährstoffen und Stoffwechselerzeugnissen noch eine ganze Anzahl chemischer Reizmittel für die Ernährung der Mikroben gibt, lehren schon ältere Untersuchungen. Anzuführen wären in erster Linie die von R a u l i n an Schimmelpilzen angestellten Experimente (§ 29), die für eine Reizwirkung mineralischer Beimengungen, z. B. der Kieselsäure, des Eisens und vor allem der Zinksalze sprechen. Dahin gehört besonders aber auch der Einfluß, den Gifte bez. Antiseptika in kleinen Mengen auf das Wachstum und die Gärtätigkeit der Mikroorganismen haben. H u g o S c h u l z ¹⁾ ist auf Grund fremder und eigener Studien an der Hefe zu dem Satze gelangt, j e d e r R e i z ü b e a u f j e d e Z e l l e e i n e W i r k u n g a u s, d e r e n E f f e k t h i n s i c h t l i c h d e r Z e l l t ä t i g k e i t u m g e k e h r t p r o p o r t i o n a l s e i d e r I n t e n s i t ä t d e s R e i z e s. Natürlich gilt dieser Satz bestenfalls nur in bestimmten Grenzen, denn daß von einer gewissen Konzentration ab die Verdünnung des Antiseptikums den Reiz herabsetzt, ist selbstverständlich. B i e r n a c k i ²⁾ hat für eine größere Reihe von Desinfektionsmitteln diejenige Konzentration be-

1) Pflügers Arch. 42.

2) Ebenda 49.

stimmt, die den größten Reiz auf Hefe ausübte und damit verglichen die Konzentration, die noch eine Hemmung bewirkte. Er fand für

	schwächste aufhebende Konzentration	stärkste beschleunigende Konzentration
Sublimat	1 : 20000	1 : 300000
Kalium hypermanganic.	1 : 10000	1 : 100000
Kupfersulfat	1 : 4000	1 : 600000
Brom	1 : 4000	1 : 50000
Thymol	1 : 3000	1 : 20000
Benzoessäure	1 : 2000	1 : 10000
Salizylsäure	1 : 1000	1 : 6000
Chinin	1 : 400	1 : 80000
Karbolsäure	1 : 200	1 : 1000
Schwefelsäure	1 : 100	1 : 10000
Resorzin	1 : 100	1 : 2000
Pyrogallol	1 : 50	1 : 4000
Borsäure	1 : 25	1 : 8000
Chloralhydrat	1 : 25	1 : 1000

Wenn auch diese Versuche insofern an einem Fehler leiden, als sie mit Preßhefe, nicht mit Reinkulturen angestellt sind, also das Vorhandensein von Bakterien das Resultat beeinflussen kann, so sind sie doch im wesentlichen als richtig zu betrachten, wie spätere Arbeiten ergeben haben. Für Schimmelpilze haben *R i c h a r d s*¹⁾ und *K o s i n s k i*²⁾, für Milchsäurebakterien *R i c h e t*³⁾ ähnliche Verhältnisse aufgedeckt. Bemerkenswert ist, daß die Zahlen der ersten Reihe nicht immer mit denen der zweiten parallel gehen. So muß man namentlich bei Kupfer zu sehr bedeutenden Verdünnungen heruntersteigen, um noch eine Reizwirkung feststellen zu können. Sie fehlte allerdings nicht (vgl. *O n o*⁴⁾). Unter den Reizen für die Gärungshefe ist nach *E f f r o n t*⁵⁾ die *Milchsäure* zu nennen, deren Nutzen für die Darstellung des Hefegutes für die Brennerei schon lange bekannt ist, und die wir schon als für die Symbiose wichtiges Stoffwechselprodukt (§ 50, vgl. § 96 und 111) kennen gelernt haben, ferner auch andere noch nicht erwähnte echte Antiseptika wie Flußsäure, Formaldehyd, schweflige Säure, Salzsäure usw.

1) Jahrb. wiss. Bot. 30, 1897.

2) Ebenda 37.

3) Compt. rend. ac. sc. 114. 1494.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9.

5) Annal. Pasteur 1896. 39.

Große praktische und theoretische Bedeutung gewonnen haben namentlich die Versuche *E f f r o n t s*¹⁾ mit *F l u ß s ä u r e* und ihren Salzen. Es stellte sich heraus, daß einerseits die gewöhnliche Regel auch für diese Antiseptika gilt, daß aber andererseits auch eine Anpassung der Hefe an die Flußsäurewirkung möglich ist²⁾. Die Wachstums- und namentlich auch die Gärkraft der in flußsauren Nährböden gezogenen Hefe kann *d a u e r n d* gesteigert werden, so daß sie auch beim Weglassen des Reizmittels bestehen bleibt. Das gleiche gilt für die übrigen Antiseptika³⁾. Wir kommen weiter unten darauf zurück (§ 57). Neuerdings hat *H ü n e*⁴⁾ die begünstigende Wirkung kleinster Mengen *S u b l i m a t s* auf die Gärung für *B. coli* bestätigt und gleichzeitig gefunden, daß auch die *b a k t e r i z i d e n* *I m m u n s e r a* in gewissen Verdünnungen das Bakterienwachstum anregen. Die Erklärung dieser Reizwirkung der Antiseptika bietet Schwierigkeiten. Es ist durchaus nicht bewiesen, daß durch die Verdünnung die Giftigkeit dieser Substanzen für das Protoplasma völlig beseitigt wird, ja, vielleicht wahrscheinlich, daß sie bestehen bleibt, daß aber die Giftwirkung in diesem Falle kompensiert und überkompensiert wird durch eine *G e g e n w i r k u n g*, eine „Reaktion“ der Zelle, die sich nicht nur in Bildung von giftneutralisierenden Stoffen (§ 57), sondern auch in einer Steigerung des gesamten Stoffwechsels äußert. Bei zu starker Konzentration der Gifte bleibt die Reaktion aus, bei Anpassung wird sie zu einer dauernden Eigenschaft (vgl. § 53).

Über die Reizwirkung anderer nicht giftiger Substanzen ist wenig bekannt. So wird ein günstiger Einfluß größerer Mengen von Kaliumphosphat auf die Hefe, von Kaliumkarbonat und -sulfat auf die Nitrobakterien (*D u m o n t* und *C r o c h e t e l l e*⁵⁾), von Magnesia- und Phosphorsalzen auf die Pigmentbakterien (§ 254), von Chlorkalzium, Chlornatrium und Salpeter auf den *Leuconostoc mesenterioides* (*L i e s e n b e r g* und *Z o p f*⁶⁾) behauptet. Doch handelt sich es im letzteren Falle anscheinend nur um die Begünstigung einer Teilfunktion, der Dextranbildung.

Die Begünstigung rein fermentativer Vorgänge auf chemischem Wege behandeln wir an anderer Stelle (§ 247), machen aber hier gleich aufmerksam auf die Tatsache, daß *k e i n P a r a l l e l i s m u s b e*

1) Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1891, 64. Vgl. *K o c h s* Jahresber. 1891 ff.

2) Deutsches Reichspatent 95412.

3) Vgl. Lit. bei *K r u i s* in *Lafars Handb.* 5. 302, 1906.

4) Zentr. Bakt. 48, 1908.

5) Compt. rend. ac. sc. 117 und 119.

6) *K o c h s* Jahresber. 1892, 90; vgl. § 128 ff.

steht zwischen diesen Reizerfolgen und denen, die in lebenden Kulturen beobachtet werden. Ebenso wenig gilt ein solcher übrigens für die Giftwirkungen (S. 191).

§ 56. **Chemische Bewegungsreize.** In denjenigen Fällen, in denen es sich um bewegliche Kleinwesen handelt, könnte man vielleicht die Förderung der Ernährung durch beliebige Reize mindestens zum Teil auf Beschleunigung ihrer Bewegungen zurückführen. Wie dem auch sei, sicher ist, daß es außer den früher betrachteten physikalischen¹⁾ auch chemische Reize gibt, die richtungsgebend auf die Bewegungen der Mikroben einwirken. Die Wachstumsbewegung von Pilzen wird nach Pfeffer, Miyoshi²⁾ u. a. beeinflußt, indem z. B. die jungen Keimschläuche durch die Spaltöffnungen eines mit Nährlösung injizierten Blattes oder durch die Löcher einer Glimmerplatte, die auf Nährgelatine liegt, einwandern. Die nährende Eigenschaft der chemotropischen Stoffe entscheidet dabei nicht, so wirken Glyzerin überhaupt kaum, Zucker, Ammoniumsalze, Phosphate, Fleischextrakt, Pepton, Asparagin mehr oder weniger stark positiv chemotropisch, Kalisalpeter, Kochsalz, Chlorkalium, Kalziumnitrat, freie organische und unorganische Säuren, Alkalien, Alkohol schon in großer Verdünnung negativ chemotropisch. Die Anlockung oder Abstoßung ist so stark, daß erhebliche Widerstände, wie Zellulosemembranen, spaltöffnungsfreie Epidermis, Goldhäutchen durchbohrt werden. Der Unterschied der Reizgröße ist dabei bestimmend, und zwar gilt auch hier das Weber'sche Gesetz. Bei aëroben Pilzen und Bakterien bewirkt der Zug zum Sauerstoff Oberflächenwachstum (*Aërotropismus*). Die Bedeutung dieser Verhältnisse für die Infektion von Pflanzen wurde durch Nordhausen und Behrens³⁾ betont. Auch bei den tierischen Infektionen spielen sie vielleicht eine gewisse Rolle, die Vorliebe der Erreger für bestimmte Gewebe und Gewebsteile ist ja bekannt genug (§ 53). Auffällig ist allerdings gerade bei Pilzinfektionen, wie die Pilzfäden scheinbar wahllos, d. h. ohne auf die Gewebsunterschiede zu achten, nach allen Seiten gleichmäßig ihre Hyphen aussenden. Der Hydro- und Osmotropismus ist dem Chemotropismus verwandt: hier entscheiden Unterschiede im Wassergehalt und osmotischen Druck⁴⁾. Bei frei beweglichen Mikroben haben wir entsprechende Einflüsse in der Chemo-, Aëro-, Hydro-, Osmotaxis. Schon Pfeffer⁵⁾ fand, daß Bakterien

1) § 46. Vgl. dort auch Literatur.

2) Bot. Zeitg. 1894, 1. Jahrb. wiss. Bot. 28, 1895.

3) Ebenda 33, 1898.

4) Vgl. Steyer, a. a. O. (§ 46).

5) Arb. bot. Inst. Tübingen 1. 363, 1884 und 2. 582, 1888.

und Protozoen aus einem Wassertropfen in Glaskapillaren, die mit Lösung von Pepton, Asparagin, Kaliumsalzen, Fleischextrakt gefüllt waren, am schnellsten einwanderten. Natrium- und Kalziumsalze, Harnstoff, Zucker waren weniger, Glyzerin gar nicht wirksam (s. o.), andere Stoffe wie Säuren, Alkalien, Alkohol und manche (nicht alle) anderen Gifte negativ chemotropisch, d. h. wirkten abstoßend. Starke Konzentration der Stoffe verwandelt die Anziehung öfter in Abstoßung, was nicht immer auf Osmotaxis beruht (vgl. § 2). So fand R o t h a r t ¹⁾, daß Äther in dünner Lösung Amylobakter anlockt, in starker vertreibt. Die einzelnen Arten können sich ungleich verhalten. Paramäcien werden z. B. nach J e n n i n g s ²⁾ von schwachen Säuren und sauren Salzen sowie destilliertem Wasser angezogen, von ihrer eigenen alkalischen Kulturflüssigkeit interessanterweise³⁾ verjagt, während Amöben durch fast alle Reize unangenehm berührt zu werden scheinen, ihre Scheinfüße einziehen oder fliehen. Manche Bakterien werden nach R o t h a r t von Äther und Chloroform beeinflusst (s. o.), andere nicht. Auch für die Chemotaxis gilt das W e b e r s c h e G e s e t z. Über die Wirkung gemischter Reize hat außer R o t h a r t namentlich K n i e p ⁴⁾ gearbeitet und kam zu dem Schluß, daß in demselben Bakterium verschiedene Reizbarkeiten bestehen. Ebenso behandelte er die Frage, ob die Reizbarkeit durch äußere Einflüsse beeinflusst werden kann. Das ist in der Tat der Fall. So war ein Fäulnisbazillus in saurer Lösung gegen Phosphate empfindlich, in alkalischer nicht, während er sich gegen Ammoniumsalze (Chlorid, Nitrat) gerade umgekehrt verhielt und von Ammonphosphat sowohl in alkalischer als saurer Lösung angelockt wurde. Auf weitere Einzelheiten gehen wir nicht ein.

Daß Sauerstoffmangel die Bewegungen von Aërobiern und Sauerstoffzutritt die von Anaërobiern allmählich ebenso hemmt, wie etwa Kälte die Bewegungen aller Mikroben, ist eine bekannte Tatsache. Nach R i t t e r ⁵⁾ verhalten sich fakultative Anaërobier gegen Sauerstoffentziehung ungleich; zum Teil verlieren sie ihre Beweglichkeit so schnell wie strenge Anaërobier, zum Teil erst nach einigen Stunden. Ernährung mit bestimmten (für sie vergärbaren?) Kohlehydraten verlängert die Bewegungsdauer erheblich.

Die anlockende Wirkung des Sauerstoffs auf Bakterien wurde

1) Flora 88, 1901.

2) Contribution of the behaviour of lower organismus. Washington, Carnegie Instit. 1904 und D o f l e i n , Protozoenkunde 1909, S. 111.

3) s. o. § 47 Stoffwechselgifte.

4) Jahrb. wiss. Bot. 43, 1906.

5) Flora 86, 1899.

zuerst von *E n g e l m a n n* ¹⁾ zur Feststellung der Assimilationsgröße von Algen in den verschiedenen Teilen des mikroskopischen Spektrums benutzt. An den Stellen, wo am meisten Sauerstoff ausgeschieden wurde, sammelten sich die Bakterien an. Aus der ungleichen Vorliebe für den Sauerstoff erklären sich auch die „Atmungsfiguren“, d. h. die verschieden geformten Bakterienansammlungen, die man nach *B e i j e r i n c k* ²⁾ in einem schräg zwischen Deckglas und Objektträger liegenden Tropfen beobachten kann. Die Bakterien des aërobiotischen Typus sammeln sich ausschließlich in einer schmalen Zone am freien Rande an, während ein anderer Teil, durch den Luftmangel starr geworden, in der Mitte liegen bleibt; die des anaërobiotischen Typus liegen sämtlich in dem zentralen Teil, die des „Spirillentypus“ — auch Vibrionen und Schwefelbakterien — in einer Zwischenzone. Später hat *B e i j e r i n c k* ³⁾ angegeben, daß die strengen Anaërobier nur, wenn sie in geringer Zahl sind, sich in der Mitte ansammeln, sonst aber, wie die Spirillen, einen Ring bilden in einiger Entfernung vom freien Rande, und betrachtet sie daher als „mikroaërophil“, wie die Spirillen u.s.w. *R i t t e r* ⁴⁾ hat das bestätigt, konnte aber nicht feststellen, daß die Anaërobier die Mitte, d. h. den Ort des vollständigen Sauerstoffmangels fliehen. Sie verhalten sich danach doch anders wie die Spirillen. Nach *B e i j e r i n c k* und *R i t t e r* zeigen fakultativ anaërobe Bakterien Atmungsfiguren wie Aërobier, einzelne aber — dieselben, die auch in Zucker, lange Zeit ihre Beweglichkeit bei Sauerstoffabschluß erhalten — sammeln sich zwar zum größten Teil am Rande an, verteilen sich aber, eben weil sie ihre Beweglichkeit nicht verlieren, sonst ziemlich gleichmäßig über den Raum des Tropfens.

Während diese Erscheinungen im Laufe weniger Minuten sich bemerkbar machen, treten die sog. „Bakterienniveaus“ *B e i j e r i n c k*s erst einige Tage auf, nachdem man Reagenzgläser mit etwas fester Nährgelatine (oder Nähragar) beschickt, mit Bakterien beimpft und dann mit Wasser 6—10 cm hoch überschichtet hat. Es sind das dünne plattenförmige Bakterienansammlungen in einiger Entfernung von der Oberfläche der Flüssigkeit, die entweder ganz scharf in dieser gegen die klare Umgebung abgegrenzt sind oder nach oben und unten in dünne Trübungen übergehen. Wahrscheinlich ist das ein Vorgang, der sich dadurch erklärt, daß die beweglichen Bakterien — denn nur solche bilden Niveaus — sich an denjenigen Stellen besonders reich-

1) Bot. Zeitg. 1881 und 1882.

2) Zentr. Bakt. 14, 1893.

3) Arch. néerland. 1899 (*K o c h*s Jahresber.).

4) Zentr. Bakt. 2. Abt., 20. 36, 1908.

lich anhäufen und vermehren, wo sie einerseits genügenden Sauerstoff, andererseits die nötigen Nährstoffe antreffen. So kommt es, daß bei Beschränkung der Sauerstoffzufuhr die Niveaus steigen, bei Verstärkung sinken. *Lehmann* und *Curchod*¹⁾, die die Dinge nachprüften, konnten die Bildung von mehreren Niveaus übereinander, die *Beijerinck* unter Umständen beobachtete, nicht bestätigen, wenigstens nicht in dem Sinne, daß sich scharf begrenzte Platten dabei entwickelten, dagegen sahen sie gelegentlich die schon von *Jegunow*²⁾ beschriebenen seltsamen *Bewegungen* bzw. trichter-, buckel- und säulenförmige *Umformungen der Bakterienplatten* („Bakteriengesellschaften“), ohne über den Mechanismus derselben zu vollständiger Klarheit zu gelangen. Es scheint, als ob passive, durch die Schwerkraft veranlaßte Wirkungen neben aktiven Leistungen der Bakterien dabei beteiligt seien.

In ihrer Ursache noch vielfach dunkel sind die Bewegungserscheinungen, die manche Bakterien, wie z. B. *Proteus* (*Hauser*) in ihren Einzelindividuen und Kolonien auf der Oberfläche der Nährböden zeigen. Daß für sie zum Teil Unebenheiten der Oberfläche bestimmend sind, zeigte neuerdings *Bugge*.³⁾

Zweifellos ist es, daß die Aërotaxis auch unter natürlichen Verhältnissen für das Leben der Kleinwesen wichtig ist, bei den verwickelten Verhältnissen im Einzelfall wird man freilich oft darüber nicht zur Klarheit gelangen, ob sie in Frage kommt.⁴⁾

§ 57. Ernährungsgifte und Gegenwirkungen der Mikroorganismen. Den ernährungsfördernden Einflüssen stehen hemmende gegenüber. Soweit sie physikalischer Natur sind (§ 42—45), auf der Reaktion (§ 41) und Konzentration der Nährböden (§ 40) beruhen oder auf die Stoffwechselerzeugnisse und Körperbestandteile der eigenen Mikrobenart oder fremder Mikro- und Makroorganismen zurückzuführen sind (§ 47, 48, 51), haben wir sie schon in den vorhergehenden Abschnitten abgehandelt. Hier gehen uns im wesentlichen nur noch die eigentlichen „fäulniswidrigen“ „antiseptischen“ oder „desinfizierenden“ Mittel, d. h. die für die Mikroben giftigen Stoffe an, und zwar in denjenigen Konzentrationen, in denen sie nicht mehr, wie wir eben sahen (§ 55), reizende Eigenschaften entwickeln. Zunächst gilt der

1) Zentr. Bakt. 2. Abt., 14. 449, 1905.

2) Ebenda 2, 1896 und 4, 1898.

3) „Pseudokolonien“. Zentr. Bakt. Ref. 42. Beilage, S. 69, 1908.

4) Vgl. z. B. *Rothermund*, Arch. f. Hyg. 65. 149 und *Kruse*, Zeitschr. f. Hyg. 59. 39 ff. Über den Keimgehalt der Oberfläche fließender und stehender Gewässer.

Satz, daß mit der Dichtigkeit der Gifte ihre wachstumshemmende oder tötende Kraft steigt. Er ist ohne weiteres verständlich. Aus dem gleichen Grunde erklärlich erschiene es, wenn die Wirkung der Gifte abnähme mit der Zahl der zu desinfizierenden Mikroben. Kommt doch so auf jede Zelle weniger Gift. In der Tat läßt sich durch Vergrößerung der Einsaat die Giftwirkung eines Nährbodens oft herabsetzen, ja völlig aufheben. Freilich besteht diese Regel anscheinend nicht für alle Gifte, bez. nur in gewissen Grenzen und erklärt sich zum Teil aus der giftneutralisierenden Fähigkeit gelöster (abgesonderter) und ungelöster Bestandteile der Mikrobenleiber und des Nährbodens, wie wir schon im § 49 bemerkten und weiter unten noch näher erörtern werden. Umgekehrt haben wir S. 166 aus der im Laboratorium oft genug zu beobachtenden Erscheinung, daß nur große, nicht kleine Mengen von Mikroben — z. B. Pneumokokken — in einem Nährboden — z. B. gewöhnlicher Nährbouillon — zum Wachstum kommen, geschlossen, daß in dem Nährboden irgendein Gift vorhanden sein müsse, über dessen Natur wir allerdings bisher kaum etwas aussagen konnten.

Eben dahin gehören, aber besser bekannt sind die zuerst von Nägeli, dann namentlich von Ficker studierten „oligodynamischen“ Einflüsse in wässerigen Flüssigkeiten, die auf der Verunreinigung mit giftigen Metallen u. dgl. beruhen. Diese Einflüsse und überhaupt die Giftwirkungen sind — damit kommen wir auf die dritte Regel — um so kräftiger, je schwächer die Nährkraft des Nährbodens sonst ist; also am größten in Wasser, am schwächsten in Eiweißlösungen (Behring). Zum Teil liegt das offenbar daran, daß Nahrungsreize die Wirkung von Nahrungsgiften ausgleichen können, zum Teil an den später zu besprechenden unmittelbar giftneutralisierenden Eigenschaften vieler Nahrungsstoffe. Da zu den Nahrungsreizen auch die Temperatur gehört, ist klar, daß bei der für das Wachstum günstigsten Temperatur ein stärkerer Zusatz von Giften nötig ist, um das Wachstum zu hemmen, als bei anderen Temperaturen. Beim Mangel an Nährstoffen und wohl auch bei Konzentrationen der Gifte, die Wachstum überhaupt nicht zulassen, gilt dagegen die Regel, daß die Gifte um so schneller töten, je höher die Temperatur ist.

Im einzelnen die antiseptischen Mittel oder gar die gesamte praktische Desinfektionslehre zu besprechen, liegt nicht in unserer Absicht. Der große Umfang dieser Aufgabe erfordert bei gründlicher Erledigung

ein Buch für sich¹⁾. Dagegen würden wir gern eine theoretische Begründung der Giftwirkungen geben, wenn der heutige Zustand unserer Kenntnisse das erlaubte. Leider ist das aber bisher (vgl. § 16), wie wir auch bei der Besprechung der Giftwirkungen, die von den Mikroben selbst ausgehen, sehen werden (§ 256), nicht der Fall. Schwierig zu erklären ist namentlich auch die spezifische Verschiedenheit der Giftwirkungen, die man bei Vergleichen der einzelnen Mikrobenarten hin und wieder, wenn auch nicht regelmäßig, beobachtet hat. Man könnte versucht sein, der Lösung des Rätsels nahe zu kommen durch das Studium der stofflichen Veränderungen, welche die oben (S. 182) schon kurz gestreifte Anpassung der Mikroben an Gifte begleiten. E f f r o n t²⁾ glaubt in der Tat auf Grund seiner chemischen Analysen die Widerstandsfähigkeit der an Flußsäure gewöhnten Hefe auf ihren höheren Kalkgehalt zurückführen zu dürfen, indem die in die Zellen eindringenden Fluoride dadurch in unlösliche Salze umgewandelt würden. Dagegen soll der Mechanismus bei der Anpassung an Formaldehyd darin bestehen, daß die Hefe ein größeres Zerstörungsvermögen gegenüber dem in Lösung befindlichen Formaldehyd gewinne. Nach G i m e l³⁾ würde eine gesteigerte Oxydasebildung die Gewöhnung der Hefe an schweflige Säure erklären. Nahe liegt es, die Vorstellung der „Seitenkettentheorie“, die E h r l i c h zur Erklärung der erworbenen Immunität aufgestellt (§ 279, 328), auf unsere Erscheinungen anzuwenden und entweder eine Übererzeugung der für das Antiseptikum empfindlichen Seitenketten (Rezeptoren) des Protoplasmas oder eine Untererzeugung derselben annehmen. Im ersten Falle wird das Gift „abgelenkt“, in unschädlicher Form gebunden, im zweiten überhaupt nicht gebunden, weil es ihm an Angriffspunkten mangelt. Wenn auch diese Theorie der Immunität ursprünglich nur für die spezifischen immunisierenden Gifte aufgestellt worden ist und dann in zweiter Linie auch Anwendung gefunden hat bei der Erklärung der Anpassung der Mikroben an tierische Abwehrstoffe (§ 328 u. 330), so hat E h r l i c h neuerdings gezeigt, daß man sich ihrer auch bedienen kann, um die Gewöhnung der Trypanosomen an chemisch gut bekannte Arzneimittel wie das Atoxyl, den Brechweinstein u. a. verständlich zu

1) Vgl. das Werk von R i d e a l, Desinfektion and preservation of food 1904, ferner die Darstellung G o t s c h l i c h s in der 3. Auflage der F l ü g g e s c h e n Mikroorganismen und in K o l l e - W a s s e r m a n n s Handb., sowie die hygienischen Lehrbücher. Über theoretische Grundlagen der Desinfektion vgl. besonders K r ö n i g und P a u l, Zeitschr. f. Hyg. 25; M a d s e n und N y m a n, ebenda 57; C h i c k, Journ. of hyg. 1908.

2) K o c h s Jahresber. 1905, 228.

3) Ebenda 229.

machen¹⁾. Er nimmt an, daß diese mit „Chemorezeptoren“ ausgestattet seien, von denen er bisher mindestens drei Gruppen unterscheidet, nämlich solche, die Arzneistoffe aus der Arsenreihe (Atoxyl usw.), oder dem Fuchsin ähnliche Farbstoffe, oder Trypanrot (aus der Benzopurpurinreihe) binden. Durch Behandlung der Trypanosomeninfektion im Tier mit diesen Mitteln gelingt es, den Parasiten gegen jede einzelne dieser drei Gruppen bzw. gegen alle zusammen eine spezifische und haltbare Widerstandsfähigkeit, Giftfestigkeit, zu verschaffen. Es sollen dabei keine Antikörper gegen die Gifte gebildet, sondern nur eine Art „Rezeptorenschwund“ oder besser gesagt, eine Verminderung der Verwandtschaft (Avidität) für die Gifte herbeigeführt werden. Diese Verminderung erfolgt gradweise, und zwar so, daß z. B. die erste Stufe der Arsenfestigkeit dadurch erreicht wird, daß die Trypanosomen der Behandlung mit p-Amidophenylarsinsäure (Atoxyl) und deren Azetylprodukt unterworfen werden. Die zweite Stufe zeichnet sich durch Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Arsenophenylglyzin, die dritte durch solche gegen arsenige Säure und Brechweinstein aus. Vielleicht geben uns ähnliche Vorstellungen die Möglichkeit, uns das spezifische Verhalten gewisser Desinfektionsmittel, z. B. Farben gegenüber Bakterien, wie Koli- und Typhusbazillen, die vielfach zu differentialdiagnostischen Zwecken benutzt worden ist, zu erklären.

Gewisse experimentelle Tatsachen (§ 49) geben uns ferner einen Anhaltspunkt für das Vorkommen giftablenkender Stoffe in den Mikrobenleibern. Nicht bloß durch stärkere Einsaat lebender Bakterien lassen sich die Wachstumswiderstände — nach unserer Auffassung die giftigen Bestandteile — ungeeigneter Nährböden überwinden, sondern auch durch Zugabe toter Bakterien bzw. von Auszügen oder filtrierten Kulturen. Diese Vorstellungen führen uns aber noch weiter. Nehmen wir nämlich das Vorhandensein giftablenkender Stoffe neben den eigentlich giftempfindlichen im Mikrobenleibe an, so erhalten wir auch eine Erklärungsmöglichkeit für die Unterschiede der Widerstandsfähigkeit normaler Mikrobenarten gegen Gifte. Wir kommen damit auf unsere Erklärung der Tatsachen zurück, die Wildier zu seiner Bios-Theorie veranlaßt haben (S. 167). Es ist natürlich gleichgültig, wie wir die giftablenkenden Stoffe in den Bakterienleibern nennen, jedenfalls sind sie in ihrer Wirkung unseren Aggressinen (vgl. auch § 328) und den Antifermenten anderer Forscher (§ 10)

1) Vgl. z. B. Ehrlich (Münchn. med. Wochenschr. 1909, 5). Die Schlüsse, die Ehrlich aus solchen Erfahrungen auf die allgemeine Konstitution des Protoplasmas, die Bedeutung der Seitenketten für die Ernährung zieht, können wir nicht billigen (vgl. § 68 u. 329).

vergleichbar. Über ihre Natur, wie eine etwaige Spezifität können wir wenig aussagen, ehe die experimentelle Bearbeitung des ganzen Gebietes nicht gründlich durchgeführt worden ist. Wir wissen aber, daß gegenüber manchen Giften, z. B. den Metallsalzen, schon den Eiweißkörpern an sich eine „fällende“ Wirkung zukommt. Ebenso kennen wir eine „absorbierende“ Fähigkeit vieler anderer „Kolloide“ gegenüber allen möglichen auch bakteriellen Giften (§ 274). Auch bei den Aggressinen können wir es schließlich unentschieden lassen, ob man ihre Leistungen gegenüber den Alexinen usw. auf eine rein chemische oder chemisch-physikalische Bindung zurückzuführen hat und müssen nur auf eine gewisse Spezifität der Leistungen Wert legen (§ 325 ff.). Vielleicht besitzen die gewöhnlichen Gifte ablenkende Stoffe letztere ebenfalls in gewissem Grade. Wir haben darauf schon hingewiesen, als wir von der wachstumsbefördernden Wirkung fremder Bakterienprodukte auf Streptokokken, Influenzabazillen usw. gesprochen haben (S. 170). Möglicherweise gehört übrigens in dieselbe Gruppe von Erscheinungen auch die wachstumsbefördernde Wirkung bestimmter anderer, nicht bakterieller Stoffe, so die Begünstigung des Influenzabazillus durch rote Blutkörper bzw. Hämoglobin, die der Gono- und Menigokokken durch Blutserum, namentlich vom Menschen, die der Trypanosomen durch Fleischsaftnährböden. Nach der gewöhnlichen Erklärung sollen alle diese Zusätze freilich unmittelbar als gute Nährstoffe wirken (S. 108). Der Beweis dafür ist aber niemals geliefert worden. Uns scheint es vorläufig ebenso berechtigt zu sein, hier von einer giftneutralisierenden Wirkung zu sprechen.

Wenn wir von Schutzmitteln der Mikroben gegen Gifte sprechen, dürfen wir auch gewisse morphologische Einrichtungen derselben nicht vergessen. Hierher gehören die Schleimhüllen, die sogenannten Kapseln der Bakterien und Hefen (§ 4), die Sporen der Bakterien, Strahlenpilze und echten Pilze, die Zysten der Protozoen. Zunächst werden wir vielleicht die größere Widerstandsfähigkeit dieser Formen¹⁾ als physikalisch bedingt auffassen dürfen: schon das Eindringen der Gifte in die Zellen muß durch die Hüllen und Membranen ja erschwert werden. Die dichtere Beschaffenheit bez. Wasserarmut des Protoplasmas der säure- und gramfesten Bakterien (§ 18 u. 19) und Sporen, der Wachsegehalt der ersteren wird ähnlich wirken. Daneben sind aber auch

1) Nach L i e s e n b e r g und Z o p f (Zentr. Bakt. 12) erhöht die Kapsel die Widerstandsfähigkeit des *Leuconostoc mesenterioides* auch gegen Erhitzung. Abgeschwächte Milzbrandbazillen gewöhnen sich nicht nur allmählich an die Alexine des Blutserums, sondern auch an die Wirkungen des Arseniks und bilden gleichzeitig Kapseln (D a n y s z, Annal. Pasteur 1900).

chemische Einflüsse nicht zu unterschätzen. So könnte man die Kapseln der infektiösen Bakterien geradezu als Sitz der Aggressine betrachten.

Von vornherein enthält die Voraussetzung, daß es verschiedene durch Anpassung erworbene Schutzmittel gibt, durchaus nichts Unwahrscheinliches.

Die schädliche Wirkung von Giften auf das Wachstum und die Lebensfähigkeit der Kleinwesen ist keineswegs immer mit einer ähnlichen Beeinflussung aller Lebensvorgänge, z. B. vieler Enzym- und Fermentleistungen verbunden. So hemmen Chloroform und andere schwache Antiseptika nicht die letzteren, obwohl sie die Zellen töten, ja, sie dienen geradezu zum Nachweis derselben. Man darf daraus aber nicht den Schluß ziehen, daß das Wachstum, der Stoffaufbau kein enzymatischer Vorgang sei, es kann sich vielmehr ganz gut um eine größere Empfindlichkeit der synthetischen Fermente handeln. Untereinander zeigen ja auch die bekannten Enzyme große Unterschiede in ihrer Empfindlichkeit für schädigende Einflüsse (Kap. XIV).

§ 58. Auswahl der Nährstoffe bei gemischter Ernährung, Spaltung razemischer Verbindungen, Zusammenwirken von Nährstoffen. Bei den verschiedenen Ansprüchen, die, wie wir in Kap. III sahen, die einzelnen Arten der Kleinwesen an die Nahrung stellen, liegt es auf der Hand, daß sie ein Wahlvermögen gegenüber den Nahrungsstoffen haben müssen. Dasselbe äußert sich einerseits darin, daß die Mikroben aus den Nährlösungen die für sie nützlichen Stoffe, selbst wenn sie stark verdünnt sind, herausziehen und die unnützen, mögen sie noch so reichlich vorhanden sein, zurücklassen, andererseits darin, daß sie in dem Gemisch an sich brauchbarer Nährstoffe den einen oder anderen bevorzugen. Daß in erster Linie chemische Anziehungskräfte, die durch Fermente vermittelt werden, im Protoplasma, nicht allein etwa, wie man wohl geglaubt hat, physikalische Verhältnisse, insbesondere eine die Osmose beeinflussende Zusammensetzung der äußeren Zellschichten dabei beteiligt sind, ist recht wahrscheinlich. Im übrigen fehlen uns fast alle Voraussetzungen, um uns ein klares Bild von dem Mechanismus dieser Vorgänge machen zu können. Im folgenden wollen wir die Auswahl der Stoffe an einigen Fällen betrachten, die genauer untersucht worden sind.

Einige Zahlen C r a m e r s über den Aschenbedarf der Cholera-bazillen haben wir schon auf S. 88 wiedergegeben; sie beweisen, daß diese Mikroorganismen die Phosphorsäure relativ begierig aufnehmen, denn ihre Asche kann 5 mal mehr davon enthalten, als die Nährboden-asche. Auch die Schwefelsäure zeigt nach C r a m e r eine ähnliche Anreicherung im Zellkörper, vermutlich auch Kalzium und Magnesium,

während der Chlorgehalt geringere Unterschiede zwischen Nährboden und Zelle aufweist.

Das Verhalten der Mikroorganismen gegenüber Kohlenstoffverbindungen hat, nach einigen vorläufigen Erfahrungen *D u c l a u x*¹⁾ *P f e f f e r*²⁾ besonders gründlich studiert. Er fand zunächst, daß Schimmelpilze (*Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*), wenn sie in Salz- und Traubenzuckerlösungen mit Glyzerin, Milchsäure oder Essigsäure gezüchtet werden, neben dem Traubenzucker vor allem die Essigsäure verzehren, viel weniger Glyzerin und Milchsäure, die bei genügendem Überschuß von Traubenzucker sogar fast völlig vor der Verbrennung geschützt werden. So verhalten sich also die drei in ihrem Nährwert ziemlich gleichwertigen Stoffe recht ungleich, nähern sich nur in dem Punkte, daß sie, selbst in großem Überschuß angewandt, den freilich viel besser zur Ernährung geeigneten Traubenzucker ihrerseits nicht vor dem Verbrauch bewahren.

Weitere Nährversuche mit Traubensäure zeigten zwar, daß von Pilzen (*Aspergillus niger*, *flavescens*, *Penicillium glaucum*, einer „Hefe“ und *Monilia candida*) sowie einem „Rechtsbakterium“ die Rechtsweinsäure, also nur der eine Bestandteil der Traubensäure, in erster Linie zur Nahrung verbraucht wird, bestätigten also die berühmte Entdeckung *P a s t e u r*s³⁾ von der Spaltung der „razemischen“ Weinsäure durch Mikroorganismen und dem Verbräuche der Rechtsweinsäure durch sie, bewiesen aber, daß gleichzeitig geringe Mengen der Linkswinsäure und, nach völligem Verbrauch der Rechtssäure, große Mengen der Linkssäure assimiliert werden. Auf der anderen Seite greift ein „Linksbakterium“ zunächst die Linkswinsäure und erst in zweiter Linie die Rechtssäure an. Schließlich fehlt es auch nicht an Mikroorganismen (*Asp. fumigatus*, *Sach. ellipsoideus*, Rosahefe, *Bac. subtilis*), die Rechts- und Linkswinsäure in gleichem Verhältnis verbrauchen. *U l p i a n i* und *C o n d e l l i*⁴⁾, *Mc. K e n z i e* und *H a r d e n*⁵⁾ bestätigten die *P f e f f e r*schen Befunde betr. die Zersetzung der Traubensäure durch Pilze.

Während *L e w k o w i t s c h*⁶⁾ bei der Mandelsäure eine Bevorzugung des linksdrehenden Bestandteils durch allerhand Pilze. und *P f e f f e r* wenigstens manchmal eine solche des rechtsdrehenden durch *Penicillium glaucum* gefunden hatten, erhielten *Mc. K e n z i e*

1) Annal. Pasteur 1889, 109.

2) Jahrb. wiss. Bot. 28, 1895.

3) Compt. rend. ac. sc. 46. 614, 1855; 51. 298, 1860.

4) *K o c h*s Jahresber. 1900.

5) Ebenda 1903.

6) Ber. chem. Gesellsch. 15 u. 16, 1882 u. 1883.

und H a r d e n mit sicheren Reinkulturen des letzteren Pilzes keine deutliche Spaltung der inaktiven Säure, ja kaum Wachstum, mit *Aspergillus niger* Links-, mit *Asp. griseus* Rechtsmandelsäure.

Inaktive Glyzerinsäure wird nach L e w k o w i t s c h, M c K e n z i e und H a r d e n durch Pilze linksdrehend, nach F r a n k l a n d ¹⁾ durch *Bac. ethaceticus* rechtsdrehend, Milchsäure nach L e w k o w i t s c h, L i n o s s i e r, F r a n k l a n d, U l p i a n i und C o n d e l l i, M c K e n z i e und H a r d e n durch Pilze und Bakterien (*Bac. subtilis*, *typhosus*) rechtsdrehend. Nach P é r é ²⁾ greift aber das *B. coli* bald die Rechts-, bald die Linksmilchsäure an, nach U l p i a n i und C o n d e l l i das *Bact. avicidum* die Rechtssäure.

Auch die aktiven Aminosäuren Alanin, Leuzin, Asparagin- und Glutaminsäure (S c h u l z e und B o ß h a r d ³⁾, E. F i s c h e r, U l p i a n i und C o n d e l l i, M c K e n z i e und H a r d e n u. a.) werden von Pilzen in ungleichem Maße zersetzt. Nach F. E h r l i c h ⁴⁾ benutzt die Hefe die in der Natur allein vorkommenden optisch aktiven Aminosäuren, z. B. das Linksleuzin und das Rechtsalanin zu ihrer Ernährung, d. h. entzieht ihnen Stickstoff in Form von Ammoniak und macht Amylalkohol usw. dabei frei (§ 90 und 173), während sie Rechtsleuzin, Linksalanin usw. fast gar nicht angreift⁵⁾.

Weitere Beispiele für das Wahlvermögen sind folgende: Essigbakterien verbrauchen zunächst den Alkohol, und, wenn dieser verschwunden ist, auch die von ihnen selbst gebildete Essigsäure. *Aspergillus niger* zerstört nach W e h m e r ⁶⁾ in ähnlicher Weise die Oxalsäure, die er vorher erzeugt, ist aber nur bei 15—20° dazu imstande, nicht bei 8—10° (§ 122). Derselbe Pilz greift Stärke, der *Bac. amylobacter* v a n T i e g h e m s Zellulose erst an, wenn er den gleichzeitig gebotenen Zucker aufgebraucht hat (vgl. D u c l a u x ⁷⁾). Auch nach B e h r e n s ⁸⁾ ist die Nutzbarkeit der organischen Säuren für Schimmelpilze je nach der Spezies sehr verschieden: *Botrytis cinerea* greift Weinsäure am stärksten an, weniger Apfelsäure, am wenigsten Zitronensäure; umgekehrt verzehrt *Penicillium glaucum* zuerst die Äpfelsäure,

1) Zentr. Bakt. 15, 1894.

2) Annal. Pasteur 1892 u. 1893.

3) Ber. chem. Gesellsch. 1891 u. 1893.

4) Bioch. Zeitschr. 1, 1906 u. 8, 1908.

5) Eine vollständige Zusammenstellung auch seltener, hier nicht genannter *razemischer* Verbindungen gibt E m m e r l i n g in L a f a r s Handbuch 1. 429, 1905.

6) Ber. bot. Ges. 1891.

7) Mikrobiol. 4. 446.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt., 4. 741.

später Wein- und Zitronensäure. Dabei ist das Wachstum auf der Weinsäure allein bei Botrytis am geringsten. Der Autor will dieses auffallende Verhalten daraus erklären, daß der Pilz „selbstregulatorisch“ die hemmende Substanz verbrauche.

Wie Traubenzucker manche anderen Stoffe vor der Zersetzung schützt (s. o.), so fand Burchard¹⁾, daß er auch den Harnstoff vor dem Angriff des *Micr. ureae liquefaciens* bewahrt. Wahrscheinlich gilt dasselbe für den Leim, denn es ist eine bekannte Erfahrung, daß Gelatine bei Zusatz von Traubenzucker von vielen Bakterien nicht verflüssigt wird.

Was die Stickstoffquellen anlangt, so kann auch hier eine N-haltige Substanz, z. B. Pepton, eine zweite, z. B. Nitrat, vor der Assimilation schützen, während die letztere allein gegeben assimiliert wird (Massen²⁾). Nach Ehrlich³⁾ schützt der Zusatz von Ammoniaksalzen oder anderen Ammoniak leicht abgebenden Verbindungen das Linksleuzin (s. o.) vor der Zersetzung und erweist sich dadurch als Vorbeugungsmittel gegen die Fuselölbildung.

Viel studiert ist die Ernährung der Hefe durch die verschiedenen Zuckerarten und deren Vergärung durch sie. Da wir später im einzelnen darauf eingehen müssen (§ 86 u. 87), wollen wir hier nur vorweg nehmen, daß die Hefearten oder Varietäten sich zu den Zuckern ebenso verschieden verhalten, wie andere Mikroorganismen zu den Weinsäuren. Nach dem einen Teil der Forscher, wie E. Chr. Hansen, Lindner, Klöcker ist dies Verhalten für jede Varietät ein feststehendes, nach Gayon und Dubourg, Dienert, Duclaux⁴⁾ sind sie aber einer Art Anpassung fähig. So sollen Hefen, die wohl Traubenzucker, aber Rohrzucker allein nicht zu vergären vermögen, den letzteren dennoch angreifen, wenn ihnen beide Zucker zusammen geboten werden und diese ihre Eigenschaft auf ihre Nachkommen vererben, so daß die Hefe auch die Fähigkeit erlangt, den Rohrzucker allein zu verarbeiten. Umgekehrt soll auch das Gärvermögen für eine Zuckerart wie Galaktose durch Ernährung der Hefe in anderen Zuckern verloren gehen können. Ähnliche Anpassungen an die Nahrung hat Pottvin bei Schimmelpilzen beobachtet, die mit Glykosiden ernährt werden (§ 155). Vielleicht handelt es sich in diesen Fällen nicht um den unbedingten Gewinn oder Verlust der Assimilationsvermögens, sondern nur um Gradunterschiede. Daß

1) Arch. f. Hyg. 36. 281.

2) Arb.-Gesundheitsamt 18.

3) Ber. chem. Ges. 1907, 1027.

4) Mikrobiol. 3. 246 ff.

in dieser Beziehung ein gewisses Maß von Variabilität vorkommt, darüber kann kein Zweifel bestehen (vgl. § 353).

Ebensowenig ist zu bezweifeln, daß ein Nährstoff, der, allein reicht, nur sehr kümmerlich ausgenutzt wird, bei Anwesenheit anderer Nährstoffe reichlich assimiliert werden kann. Diese Erfahrungen haben z. B. P f e f f e r (a. a. O., S. 233) bei Pilzen mit Linksw einsäure, P r o s - k a u e r und B e c k ¹⁾ beim Tuberkelbazillus mit Zuckerarten, S a l z - m a n n ¹⁾ bei den denitrifizierenden Bakterien mit Salpeter, M a a s - s e n ¹⁾ bei verschiedenen Bakterien mit organischen Säuren allerart gemacht. Wie man sich den Vorgang zu denken hat, bleibt in den meisten Fällen noch aufzuklären (vgl. S. 118 u. 128).

1) Vgl. Lit. § 29.

Kapitel V.

Die Stoffwechselvorgänge im allgemeinen ¹⁾.

§ 59. **Einleitung.** In den vorigen beiden Kapiteln haben wir festgestellt, welche Stoffe für die Ernährung der Mikroorganismen nötig sind, in welcher Menge und Mischung sie gereicht werden müssen, und welche Einflüsse die Ernährung begünstigen oder hemmen. Die Frage, welchen Wandlungen die Nährstoffe dabei unterliegen, die Kräfte, mit deren Hilfe die Mikroorganismen diese Veränderungen hervorrufen, mit einem Wort, die **S t o f f w e c h s e l v o r g ä n g e**, wurden dabei höchstens oberflächlich berührt. Die Aufgabe der folgenden Kapitel wird es sein, soweit das die vorliegenden Erfahrungen gestatten, in den Stoffwechsel selbst einzudringen.

Das Ziel, das wir uns stecken, besteht darin, möglichst jeden **S t o f f**, der der Ernährung dient, in seinen Schicksalen bis zum Ende zu verfolgen. Wir werden also nacheinander die Wandlungen der Kohlehydrate, Alkohole, der organischen Säuren, der verwickelten oder einfachen Stickstoffverbindungen, der schwefel- und eisenhaltigen Körper, des Sauerstoffs usw. behandeln. Bei weitem die meisten und gerade die bestbekannten Vorgänge sind abbauende (zersetzende, dissimilierende), immerhin fehlen unter den letzteren auch aufbauende (synthetische, assimilierende) nicht ganz, wenn sie auch nur Hüll- und Vorratsstoffe der Zellen zu betreffen scheinen. Dabei kommen wir von selbst schon einerseits auf die **S t o f f w e c h s e l e r z e u g n i s s e**, andererseits auf die Hilfsmittel, deren sich die Mikroorganismen zur Stoffumwandlung bedienen, d. h. die **Fermente** oder **Enzyme**, sehen allerdings hier schon eine Grenze für unsere Erkenntnis, insofern wir zugeben müssen, daß wir sowohl über die chemische Natur dieser letzteren Zellbestandteile als ihre Entstehungs- und Wirkungsweise im Dunkeln sind. Ähnliche Erfahrungen müssen wir auch sonst machen, so kennen wir zwar im wesentlichen die grobe chemische Zusammensetzung des Hauptteils der Zellen, des Protoplasmas, sind aber vielfach im unklaren über dessen feinen Bau

1) Vgl. hierzu namentlich **D u c l a u x**, *Traité de microbiologie*.

und den Weg, auf dem es sich aus den Nahrungsstoffen beim Wachstum bildet, mit anderen Worten, auf dem die Assimilation stattfindet. Immerhin haben wir hier noch wenigstens gewisse Möglichkeiten für das Verständnis der synthetischen Vorgänge. Viel schwieriger wird die Untersuchung wieder, wenn wir zu dem Aufbau der biologisch wichtigen spezifischen Zellbestandteilen kommen, unter denen außer den Fermenten und Farbstoffen namentlich die Gifte, Angriffs- und Impfstoffe zu nennen sind.

Bevor wir unsere Untersuchung nach diesem Plane durchführen, geben wir hier eine Übersicht über die verschiedenen Vorgänge des Stoffwechsels und nehmen dabei gewisse allgemeine Ergebnisse schon vorweg. Die Umwandlungen, welche die Kohlehydrate im Stoffwechsel erleiden, dienen uns dabei am besten als Beispiele für die wichtigsten chemischen Prozesse.

§ 60. Hydrolytische Spaltungen und Verflüssigungen.

I. Viele Mikroorganismen besitzen die Fähigkeit, unlösliche Stärke zu lösen und gelöste Stärke zu verzuckern. Der Vorgang stellt dar in erster Linie eine physikalische Veränderung, eine Verflüssigung oder Verdauung, wobei der ursprünglich unlösliche oder kolloidale Stoff in einen gut löslichen und teilweise kristallisierbaren verwandelt wird. (Chemisch entspricht ihm eine Zerspaltung des stark polymerisierten Stärkemoleküls $(C_6H_{10}O_5)_{mn}$ in das weniger Moleküle $C_6H_{10}O_5$ enthaltende Dextrin $(C_6H_{10}O_5)_n$ und eine teilweise, unter Wasseraufnahme erfolgende, weitere Spaltung (Hydrolyse) des Dextrins zu einem

Disaccharid (Maltose) nach der Formel $(C_6H_{10}O_5)_n + \frac{n}{2}H_2O = \frac{n}{2}C_{12}H_{22}O_{11}$.

Der Prozeß wird durch eine Absonderung der Mikroorganismen, die von Payen und Persoz 1833 zuerst aus Malz dargestellte und benannte Diastase verursacht. Kleinste Mengen dieses Stoffes genügen, um die Umwandlung großer Mengen von Stärke zu vollziehen und scheinen selbst den Prozeß, ohne angegriffen zu werden, zu überdauern. Sie ähneln deshalb den sogenannten katalytischen oder Kontaktsubstanzen bekannter Zusammensetzung, in diesem Falle den verdünnten Säuren, die imstande sind, dieselbe Umwandlung zu vollziehen. Zu Ehren der Entdecker bezeichnen die französischen Forscher¹⁾ alle ähnlichen Zellsekrete als Diastasen; bei uns sind die Ausdrücke lösliche (u n g e f o r m t e) F e r m e n t e oder E n z y m e (K ü h n e) gebräuchlicher. Wir werden die letzteren bevorzugen und das Wort Diastase für das stärkelösende

1) D u c l a u x, Microbiol. 2. 14.

Enzym bewahren. Für die Bezeichnung der übrigen Enzyme werden wir dagegen nach dem Vorgange der meisten neueren Forscher den Grundsatz möglichst befolgen, daß durch die Anhängung „ase“ an den lateinischen Namen des durch das Enzym veränderten Stoffes das Enzym selbst bezeichnet wird. So würde also „Amylase“ gleichbedeutend sein mit Diastase¹⁾.

Zu den verflüssigenden Vorgängen gehört gleicherweise die Verwandlung des Inulins durch die Inulinase, des Pektins durch die Pektinase, der Zellulose durch die Zellulase usw., aber auch die sogenannte Peptonisierung der festen und schwer diffusiblen Eiweißkörper durch peptische und tryptische Enzyme.

II. Chemisch scharf charakterisiert als einfache Hydrolyse ist die sogenannte Inversion des Rohrzuckers, die nach der Formel



verläuft und durch das Invertin (Invertase, Saccharase) bewirkt wird. Die Formel ist die gleiche für die Hydrolyse der übrigen Disaccharide, des Malzzuckers durch die Maltase, des Milchzuckers durch die Laktase, der Melibiose durch die Melibiase usw., nur sind die daraus hervorgehenden Hexosen (Glykose, Galaktose, Fruktose) durch ihre Konstitution verschieden. Einer hydrolytischen Spaltung entspricht auch der Zerfall der Trisaccharide, z. B. der Raffinose in Melibiose und Fruktose durch die Raffinase, der Glykoside in Zucker und andere meist aromatische Bestandteile durch Emulsin usw., der Fette in Glycerin und Fettsäure durch Lipase, und wenn man will, auch des Harnstoffs in kohlen saures Ammoniak durch die Urease.

§ 61. Spaltungsgärungen. III. Eine Spaltung des Traubenzuckers und anderer Hexosen in zwei Milchsäuremoleküle führt die sog. Milchsäuregärung herbei:



Ebenfalls in einer Spaltung²⁾, aber in einer solchen in einen flüssigen

1) Leider ist eine ganz folgerichtige Anwendung unserer Regel gegenüber lange eingebürgerten älteren Namen nicht durchführbar und wird auch sehr erschwert dadurch, daß ein und derselbe Stoff verschiedenen enzymatischen Veränderungen verfallen kann.

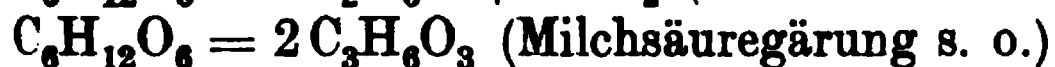
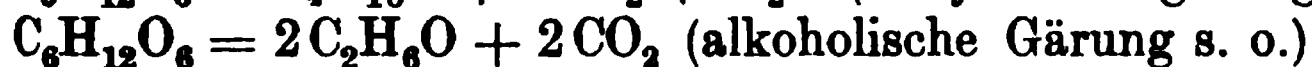
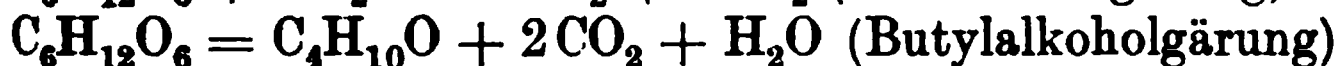
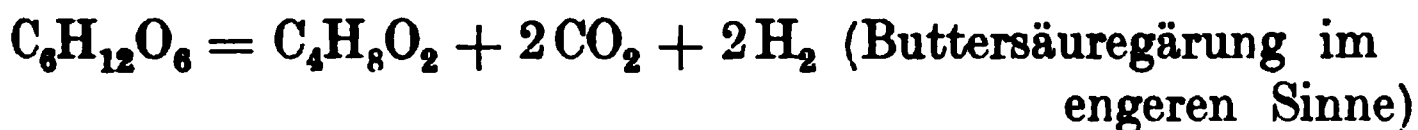
2) Man sieht, wie im Gegensatz zu den Hydrolysen die Spaltung der Moleküle hier eine tiefergehende ist und anscheinend ohne Beteiligung des Wassers verläuft. Eine nähere Untersuchung der chemischen Vorgänge, durch die das Endergebnis erreicht werden könnte, zeigt aber, daß eine Mitwirkung des Wassers dabei kaum entbehrt werden kann, nur gleichen sich in den genannten beiden Fällen Wassereintritt und -austritt miteinander wieder aus (§ 88). Bei anderen Spaltungsgärungen ist das aber nicht immer der Fall (s. u.).

und einen gasförmigen Bestandteil (Alkohol und Kohlensäure) besteht die alkoholische Gärung des Zuckers



Bis 1897 glaubte man meist, daß diese „Gärungen“ oder besser Spaltungsgärungen¹⁾, die sich von den Verflüssigungen und hydrolytischen Spaltungen auch durch die Schwierigkeit, sie auf anderem als biologischem Wege zu erzeugen und die viel reichlichere Wärmeentwicklung, von der sie begleitet werden, unterscheiden, nicht wie die Hydrolysen durch isolierbare Enzyme, sondern nur durch die Wirkung „geformter“ Fermente oder des „lebenden Protoplasmas“ hervorgebracht würden. E d u a r d B u c h n e r hat den Beweis des Gegenteils geführt, indem er zuerst die „Zymase“, das Enzym der Alkoholgärung und später das der Milchsäuregärung aus den Leibern der Mikroorganismen darstellte. Damit fällt ein wesentlicher Unterschied zwischen Hydrolysen und Gärungen.

Zu den Spaltungsprozessen gehören eine große Reihe anderer Gärungen, zunächst die der Zuckerarten und der übrigen Kohlehydrate, so die (anaërobe) Essigsäure-, Wasserstoff-, Buttersäure- und Sumpfgasgärung, dann aber auch die Gärungen höherer Alkohole (Mannit, Glyzerin), der Fettsäuren (Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Milchsäure, Weinsäure usw.) und endlich die sog. Fäulnis der Eiweißkörper, d. h. die Spaltung der Aminosäuren. Sie sind nicht so gut bekannt, weil sie verwickelter sind. Bei der sogenannten Buttersäuregärung werden wir z. B. sehen, daß sie wahrscheinlich aus einer ganzen Reihe verschiedener Einzelgärungen zusammengesetzt ist. Sie lassen sich in folgenden Formeln, unter denen auch die der alkoholischen und Milchsäuregärung vorkommen, wiedergeben (§ 114 und 115):

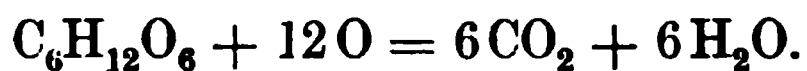


Je nachdem die eine oder andere Spaltung überwiegt, ist die Mischung der erhaltenen Produkte eine verschiedene, scheinbar regellose. Bei

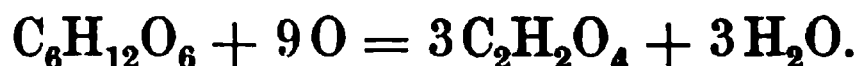
1) Die Begriffsbestimmung der Gärungen ist leider im Laufe der Zeiten und bei den verschiedenen Autoren so vielen Schwankungen unterlegen, daß man von einem einheitlichen Sprachgebrauch nicht reden kann. Ursprünglich wurden darunter, wie das Wort sagt, nur Zersetzungen verstanden, die mit Gasentwicklung verliefen. Später hat man andere Spal-

vielen anderen Gärungen haben wir ähnliche Verhältnisse. Daraus braucht natürlich nicht zu folgen, daß keine Regel bestehe, und daß die genannten Spaltungen nicht enzymatischer Natur seien. Im Gegenteil wird uns die Zukunft wohl noch die Kenntnis von vielen anderen Gärungsenzymen verschaffen. Bei den tiefen Spaltungen des Eiweißes, bzw. der Aminosäuren scheint das in gewissem Grade schon gelungen, man kann z. B. von einer „Aminazidase“ sprechen, die Asparaginsäure in Bernsteinsäure, Essigsäure, Kohlensäure und Ammoniak spaltet (§ 169). Bei der sogenannten Selbstverdauung unter Ausschluß des Lebens durch Chloroform u. dgl. wird ferner gelegentlich bis zu 50% des Stickstoffs als Ammoniak frei, muß also eine Spaltung zahlreicher Aminosäuren stattfinden (§ 166). Auch die Abspaltung von Schwefelwasserstoff aus Eiweiß durch keimfreie Bakterienprodukte (M a a s s e n § 255) gehört wohl hierher.

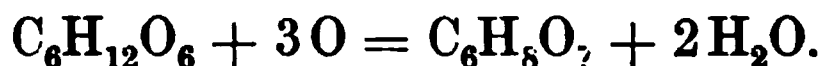
§ 62. Oxydationen. IV. Während bei den bisher betrachteten Stoffwechselvorgängen der Luftsauerstoff wenigstens unmittelbar keine Rolle spielt, ist das bei den Oxydationen oder Oxydationsgärungen der Fall. Je nach dem Verbrauch verschiedener Sauerstoffmengen entstehen verschiedene Produkte aus demselben Stoff (§ 119 ff.). So haben wir bei Zutritt von 12 Sauerstoffatomen zum Zuckermolekül die vollständige Verbrennung (Veratmung) desselben zu Kohlensäure und Wasser:



Wird der Oxydationsprozeß etwas früher unterbrochen, so sprechen wir von der „Oxalsäuregärung“



Noch weniger Sauerstoff verlangt die „Zitronensäuregärung“:



Am wenigsten Sauerstoff ist schließlich für die Entstehung der Glykonsäure, Glykuronsäure und der Glyzerose aus Zucker vonnöten. Eigentümlicherweise hängt das Zustandekommen dieser verschiedenen Oxydationen weniger von der ungleichen Versorgung der Mikroben mit Sauerstoff, als von der Eigenart der Mikroben selbst ab. Weitere bekannte Vorgänge sind die Essigsäuregärung, die den Alkohol zu Essigsäure, die Nitrifikation, die Ammoniak zu Salpetersäure, die Verwesung, die Eiweißstoffe verbrennt. Die Forschungen der letzten Jahrzehnte, an erster Stelle die von G. B e r t r a n d, E. B u c h n e r

tungen, aber auch Oxydationen (z. B. die aërobe Essiggärung), Hydrolysen (Harnsäuregärung) und Reduktionen (Mannitgärung), Kondensationen (Schleimgärung) und Farbstoffbildungen (Pigmentgärung) als Gärungen bezeichnet. Wenn wir den Namen überhaupt beibehalten wollen, so sprechen wir besser von Spaltungs-, Oxydations- usw. Gärungen.

und M e i s e n h e i m e r haben es wahrscheinlich gemacht, daß nicht bloß einfachste, biologisch wenig wichtige Oxydationen, wie z. B. diejenigen, die zur Bildung von Farbstoffen führen, sondern mindestens ein Teil der „Oxydationsgärungen“, insbesondere die (aërobe) Essigsäuregärung durch Enzyme, die Sauerstoff übertragen, die sogenannten Oxydasen, vermittelt wird. Es ist aber nicht unmöglich, ja, sogar recht wahrscheinlich, daß überhaupt die „Atmung“ (Luftatmung, Sauerstoffatmung) der aëroben Mikroorganismen, wie die aller luftliebenden Wesen auf die Wirkung solcher Oxydasen zurückzuführen ist.

Während diese eigentliche oder äußere Atmung stets durch Aufnahme freien Sauerstoffs und häufig durch Abgabe von Kohlensäure ausgezeichnet ist, bezeichnet man bekanntlich als innere (intramolekulare) Atmung eine Ausscheidung von Kohlensäure, die nicht an den Zutritt freien Sauerstoffs gebunden ist. Ihre Existenz ist durch die berühmten Untersuchungen P f l ü g e r s ¹⁾ für den Frosch, für höhere Pflanzen durch P a s t e u r, P f e f f e r ²⁾ u. a. festgestellt worden. Diese Forscher brachten sie auch in Zusammenhang mit der alkoholischen Gärung (s. o.). Bei vielen Kleinwesen hat man ähnliches beobachtet, und zwar sind es stets solche, die eine Zeitlang oder dauernd ohne Sauerstoff leben und Spaltungsgärungen erregen können. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind eben diese Gärungen — nicht bloß die alkoholische, und nicht bloß diejenigen, bei denen Kohlensäure entwickelt wird — mit der intramolekularen Atmung identisch und ermöglichen geradezu erst das Leben ohne Sauerstoff, die Anaërobiotie, indem sie die zum Leben nötige Wärme (Energie) liefern. Aus dem Umstande, daß die Oxydationen meist erheblich mehr Wärme entwickeln, als die Spaltungen, erklärt sich der gewöhnlich viel größere Stoffverbrauch bei der letzteren. Überall da, wo die Oxydationen verhältnismäßig wenig Wärme liefern, steigt aber auch der Stoffverbrauch bei den Aërobiern in ähnlicher Weise an. Und gerade derartige Vorgänge verdienen deshalb in erster Linie den Namen der Oxydationsgärungen. Die hydrolytischen Spaltungen und Verflüssigungen kommen dagegen, wie oben bemerkt, für die Kraftlieferung nicht in Betracht³⁾. Sie dienen vielmehr nur zur Vorbereitung der Nahrung, zur eigentlichen Verdauung. Damit hängt zusammen, daß Hydrolysen und Verflüssigungen meist (nicht immer)

1) Pflügers Archiv 10.

2) Pflanzenphysiologie 1. 545.

3) Alle Einzelheiten über die Energieverhältnisse vgl. in Kap. XIII.

durch Enzyme, die von der Zelle nach außen abgesondert werden, veranlaßt werden, während Spaltungen und Oxydationen, ob sie nachweislich durch Enzyme verursacht werden oder nicht, stets innerhalb der Zellen selbst verlaufen. Freilich sind die Produkte, die aus den dynamogenen Zersetzungen hervorgehen, für die Assimilation oder weitere Zersetzungen noch nicht notwendigerweise verloren, d. h. als Auswurfstoffe (Exkrete) zu betrachten. Nur von der Kohlensäure kann man das wohl immer sagen, die übrigen Stoffe werden unter Umständen im Stoffwechsel weiter verbraucht. So verbrennen z. B. Schimmelpilze und Essigbakterien die durch die Oxydation gebildete Oxal- und Essigsäure vollständig zu Kohlensäure und Wasser, wenn ihnen kein Zucker oder Alkohol mehr zur Verfügung stehen, und so benutzt die Hefe das Ammoniak, das neben Fuselöl bei der Leuzinspaltung entsteht, zu ihrer Stickstoffernährung.

Läßt sich einerseits wegen der Möglichkeit der Anaërobiose nicht leugnen, daß die Mikroben die Sauerstoffatmung nicht so unumgänglich nötig haben, wie die höheren Organismen, so ist andererseits die Verwendung des Sauerstoffs der Luft bei ersteren eine weit vielseitigere als bei den letzteren, da sie nicht bloß die gewöhnlichen Nährstoffe, sondern eigentlich alle Stoffe, die überhaupt der Oxydation fähig sind, z. B. selbst Wasserstoff, Kohlenoxyd, Sumpfgas (§ 33), Schwefelwasserstoff (§ 207), Ammoniak (§ 196) verbrennen, ja als ausschließliche Kraftquellen benutzen. Dabei sind sie, wie wir gleich sehen werden, noch befähigt, zur Oxydation sich statt des Luftsaauerstoffs des an Stickstoff oder Schwefel gebundenen Sauerstoffs zu bedienen. Freilich sind diese Leistungen meist nur wieder auf ganz bestimmte Arten von Kleinwesen beschränkt.

§ 63. Reduktionen. V. Wenden wir uns jetzt zu den Reduktionen, so bieten uns die Kohlehydrate auch Beispiele von solchen, selbst wenn wir die Reduktionsprodukte, die neben Oxydationsprodukten aus den schon besprochenen Spaltungsgärungen hervorgehen, wie Alkohol, Butylalkohol, Wasserstoff usw. nicht berücksichtigen. Durch Aufnahme von 2 Atomen Wasserstoff in das Fruchtzuckermolekül bildet sich M a n n i t bei der nach ihm benannten Mannitgärung des Weines (§ 124). Daneben wird etwas Milch-, Essigsäure und Kohlensäure erzeugt. Die ersten beiden Säuren kann man aus unmittelbarer Spaltung des Zuckers herleiten (s. o.), Mannit und Kohlensäure könnten aus folgender Gleichung hervorgehen:



Diese Reduktion erfolgt übrigens, obwohl sie eine teilweise Synthese

darstellt, unter Wärmeentwicklung, ist also den kraftliefernden Vorgängen anzureihen.

Durch Reduktionsprozesse entstehen ferner Fett und Eiweiß aus Kohlehydraten. Doch kommen wir damit schon in das Gebiet der eigentlichen stark endothermen Synthesen (§ 66). Andere Stoffe werden leichter reduziert als die Kohlehydrate, die selbst vielmehr als Reduktionsmittel dienen gegenüber anderen Stoffen, so vor allem gegenüber den Nitraten und Nitriten, die von den meisten Mikroorganismen mehr oder weniger kräftig reduziert werden. Die Produkte sind Nitrite oder Ammoniak, bei den sogenannten denitrifizierenden Bakterien freier Stickstoff. Da niemals freier Sauerstoff entbunden wird, sondern auf Kosten der Kohlehydrate usw. Oxydationsprodukte entstehen, können wir diese Reduktionen als *Oxydationen* auffassen, für die der nötige Sauerstoff statt aus der Atmosphäre aus der Salpeter- und salpetrigen Säure entnommen wird. In der Tat wird die „Stickstoffgärung“ bei Sauerstoffabschluß von sonst luftliebenden Bakterien vollzogen. Ebenso dient die Schwefelsäure den Erregern der „Schwefelwasserstoffgärung“ als Sauerstofflieferant, kann aber bei diesen strengen Anaërobiern nicht durch freien Sauerstoff ersetzt werden. Diesen Reduktionen, die der Kraftlieferung und zum Teil nebenher der Assimilation des Stickstoffs aus Oxydverbindungen dienen, steht gegenüber die Entwicklung von Schwefelwasserstoff aus allen möglichen Schwefelverbindungen und regulinischem Schwefel, die ebenfalls eine weitverbreitete Eigenschaft der Mikroorganismen ist, aber anscheinend keine Kraftquelle darstellt. Daß gelegentlich keine eigentliche Reduktion, sondern nur eine Abspaltung vorgebildeten Schwefelwasserstoffs stattfindet, kann an der allgemeinen Auffassung des Vorgangs nichts ändern. Ebenfalls hierher gehört die Reduktion von Farbstoffen durch Bakterien. Welche Bedeutung diese Leistungen im Leben der Kleinwesen haben, steht dahin.

Die bei den Mikroorganismen nur ausnahmsweise auftretende Reduktion der Kohlensäure, sowie die des freien Stickstoffs zu Ammoniak bez. Eiweiß gehören zu den eigentlichen Synthesen (§ 66).

Früher standen sich zwei Erklärungen für die beobachteten Reduktionswirkungen gegenüber. Nach der einen wäre es naszierender Wasserstoff, nach der anderen, die die erste nicht ausschließt, das lebende Protoplasma selbst, die sie vollbringt. Daß Wasserstoff z. B. bei den Gärungen aus Spaltungen vielfach entsteht und im statu nascendi energische reduzierende Wirkungen entfalten könnte, ist nicht zu bestreiten, doch ist im gegebenen Falle selten der Nachweis seiner Wirkung und bei den meisten Reduktionen auch nicht einmal der seiner Entstehung geliefert. Zur „Protoplasmawirkung“ greift man immer

dann, wenn keine andere Deutung möglich scheint. Neuerdings ist eine solche Möglichkeit auch hier eröffnet worden durch die Enzymtheorie. Ähnlich wie es anorganische Kontaktsubstanzen gibt, die Reduktion bewirken, z. B. den überschüssigen Sauerstoff des Wasserstoffsuperoxyds entbinden, so gibt es auch organische Katalysatoren, Enzyme, die das vermögen. Längst bekannt ist das für das eben gewählte Beispiel, denn alle Enzyme, auch die der Mikroben, haben die Fähigkeit, H_2O_2 zu zersetzen, sie enthalten, wie man jetzt sagt, „Katalasen“. Dazu kommen als eigentliche „Reduktasen“ das *Philothion*, das *Rey-Pailhade* schon 1890 im alkoholischen Extrakt der Bierhefe fand und das aus Schwefel Schwefelwasserstoff entwickelt. In keimfreiem Hefenpreßsaft und bei Bakterien sind dann noch weitere Reduktasen gefunden worden, freilich noch nicht solche, welche die der Kraftlieferung und dem Aufbau dienenden Prozesse erklären könnten (vgl. S. 107 oben).

§ 64. **Anhydridbildung.** VI. Wie die Reduktion der Oxydation, so steht die Anhydrid- oder Ätherbildung der Hydrolyse gegenüber. Alle höheren Organismen, Tiere wie Pflanzen, sind dazu fähig, sie bauen in ihrem Leibe z. B. mit Leichtigkeit Disaccharide aus Hexosen, Fette aus Glycerin und Fettsäuren, Eiweiß aus Peptonen, Harnstoff aus kohlsaurem Ammoniak auf. Allgemein nachgewiesen ist derartiges bisher, streng genommen, noch nicht für Mikroorganismen, aber sehr wahrscheinlich, denn die Endprodukte des Prozesses, die unter gleichzeitiger Kondensation gebildet werden (Stärke, Glykogen, Zellulose, Fett), fehlen auch bei ihnen nicht (§ 65). Neuere Erfahrungen, die sich namentlich an die Beobachtung *Hills*¹⁾ angeschlossen haben, führen weiter zu der Anschauung, daß dieselben Enzyme, die die Hydrolyse bewirken, bei einer gewissen Konzentration der entstandenen Produkte die Umkehrung der Prozesse einleiten, daß wir es hier, wie man zu sagen pflegt, mit „reversiblen“ Prozessen zu tun haben. So haben *Hill* und nach ihm *Emmerling* konstatiert, daß Glykose unter dem Einfluß der Maltase in stärkeren Lösungen zum Teil zu Maltose (oder Isomaltose) wird; *E. Fischer* und *Armstrong* sahen aus Galaktose und Glykose durch Laktase Milchzucker entstehen u. a. m. Die Bedeutung dieser Tatsachen für die enzymatische Erklärung der einfachen Synthesen liegt auf der Hand.

§ 65. **Verdichtungen.** VII. Das zeigt sich gleich bei einer weiteren Gruppe von Vorgängen, die man als Verdichtungen oder Kondensationen (Polymerisationen) bezeichnen kann, und die die Umkehrung der Verflüssigungsprozesse (§ 60) darstellen. Da die Mikro-

1) Journal of the chemical society. August 1898.

organismen die Stärke, das Glykogen, die Zellulose, die sie in ihrem Körper ansetzen, meist in Form von kristallisierbarem Zucker aufnehmen, müssen sie im Inneren daraus erst wieder Wasser abspalten und dann die Moleküle kondensieren. Das scheint auch hier wieder unter der Einwirkung derselben Enzyme vor sich zu gehen. So würden nach *Harden und Young, Buchner und Meisenheimer* durch die Zymase aus Zucker wieder Polysaccharide aufgebaut.

Ähnliche Vorgänge scheinen sich abzuspielen bei den sogenannten schleimigen Gärungen, die in Wein und Bier, Milch, dem Saft der Zuckerrüben und allen möglichen Pflanzensäften vorkommen. Es wird hierbei aus Hexosen $C_6H_{12}O_6$ unter Austritt von Wasser das Polysaccharid $(C_6H_{10}O_5)_p$ des Pflanzenschleims gebildet. Aus Zellulose soll der Schleim der sogenannten Essigmutter bestehen. Man spricht hier von Gärungen, weil das Erzeugnis sich massenhaft außerhalb der Zellen anhäuft, es ist aber nicht verschieden von den in den Zellen abgelagerten Stoffen.

Eine extrazelluläre Kondensation ist nach *Duciaux* in gewisser Beziehung sehr bestechender Auffassung auch die Gerinnung des Kaseins der Milch durch Labenzym, die ja von vielen Mikroorganismen bewerkstelligt wird. Wahrscheinlich erfolgt aber auch der intrazelluläre Aufbau des Eiweißes in ähnlicher Weise durch Kondensation von Aminosäuren zu Polypeptiden, Peptonen usw.

Der chemische Vorgang bei den genannten Kondensationen ist noch nicht genügend aufgeklärt und erfolgt vielleicht auf verschiedene Weise, d. h. entweder unter fortgesetzter Verkettung mit Wasseraustritt nach Art der Trisaccharide und Polypeptide oder — wenigstens teilweise — unter Atomverschiebungen und zyklischen Bindungen, wie sie bei der Polymerisation beobachtet werden.

Während die Reduktionen meist exotherm verlaufen, gehören Kondensation und Anhydridbildung der Regel nach zu den endothermen Vorgängen, doch wird nur wenig Wärme dabei gebunden.

§ 66. Synthesen. VIII. Teils den tiefen Spaltungen, teils den Oxydationen entgegengesetzt durch die Natur der chemischen Vorgänge sind die eigentlichen Synthesen, die darum auch einen großen Energieaufwand erfordern, also ebensoviel Wärme binden, wie jene erzeugen. Dahin gehören außer dem Aufbau der Zellsubstanzen aus den gewöhnlichen Nährstoffen auch die ohne Chlorophyll und Lichtwirkung zustande kommende Assimilation der Kohlensäure durch die Nitrobakterien (*Hüppe und Heräus, Winogradsky*), die ähnlichen Leistungen gewisser Schwefelbakterien, die ebenso merkwürdige Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch die Bakterien der Wurzelknöllchen (*Hellriegel*), das *Clostridium Pasto-*

rianum Winogradskys, das Azotobakter chroococcum Beijerincks u. a. Über die Wege, die dazu führen, ist man meist noch ganz im unklaren, wenn es auch an Vermutungen darüber nicht fehlt. Ebenso ist der Mechanismus der Synthesen noch unbekannt. Nach den Fortschritten, die in der letzten Zeit die Kenntnis der Fermente bzw. Enzyme gemacht, liegt es aber nahe genug, auch für den Aufbau des Protoplasmas auf die Tätigkeit fermentativer Kräfte, vielleicht sogar isolierbarer Enzyme, zurückzugreifen, Assimilation und Dissimilation also auf einen ähnlichen Mechanismus zurückzuführen. Jedenfalls wäre es sehr unvorsichtig, ohne weiteres diese Möglichkeit abzulehnen. Man braucht nur daran zu erinnern, wie sehr sich diejenigen — und es war sicher die große Mehrzahl der Gelehrten — getäuscht haben, die noch vor 15 Jahren die Vorstellung für unannehmbar erklärten, daß die Gärwirkungen im Inneren des lebenden Zelleibes durch einen besonderen, von der Zelle produzierten enzymartigen Stoff, der sich nur wegen seiner großen Empfindlichkeit nicht isolieren ließe, vermittelt würden. Wenige Jahre darauf hatten wir die Zymase der alkoholischen Gärung und die Enzyme der Milchsäure- und Essiggärung in Händen! Und die Zukunft wird uns hoffentlich noch viele derartige Überraschungen bringen. Wahrscheinlich hat das erwähnte Vorurteil es nur zuwege gebracht, daß wir solange auf die Entdeckung der Zymase haben warten müssen.

Natürlich wäre es nicht nötig, anzunehmen, daß die vermuteten synthetischen Enzyme genau in der umgekehrten Richtung arbeiteten, wie sich die Spaltungen und Oxydationen vollzögen, daß diese selbst umkehrbare Prozesse darstellten, also z. B. die Synthese des Zuckers sich durch Zusammentreten von Alkohol und Kohlensäure vollziehen könnte. Mißtrauisch müssen wir aber auch gegen die Versuche sein, aus „theoretischen“ Gründen allein die Möglichkeit ihrer enzymatischen Entstehung zu bestreiten. Wir müssen wohl Geduld haben, bis die Erfahrung auch in dieser Frage entscheidet und uns nicht auf Definitionen der Enzyme, wie die Ostwaldsche, festlegen, die sich später als unrichtig erweisen könnten (§ 239). Analogien mit unorganischen Katalysatoren sind nicht maßgebend, die Fermente der Zelle sind eben weit leistungsfähiger, wie uns schon die bisher bekannten Gärungsenzyme lehren. Die Hauptsache wird immer bleiben, daß die zur Leistung der synthetischen Arbeit nötige Kraft der Zelle geliefert wird, und dafür sorgen deren reichliche Wärmequellen, d. h. Oxydationen und Gärungen.

Vergegenwärtigt man sich im einzelnen den Gang der Synthesen, die z. B. zum Aufbau des Eiweißmoleküls führen könnten, so sieht man zunächst, daß bei den Mikroorganismen die Mannigfaltigkeit der Pro-

zesse eine viel größere sein muß, als bei den Tieren und zum Teil noch bei den Pflanzen: die Ernährungsmöglichkeiten sind ja, wie wir im Kap. III gesehen, viel umfassender: der nötige Stickstoff und Kohlenstoff kann in der verschiedensten Form geboten sein. Dementsprechend müssen auch die synthetischen Prozesse wechseln. Nehmen wir an, daß als einziger Nährstoff eine Aminosäure geliefert wäre, z. B. Alanin (Aminopropionsäure), so würde die erste Aufgabe der Zelle darin bestehen, aus diesem Grundstoff alle übrigen Bestandteile des Eiweißmoleküls, die zahlreichen anderen Aminosäuren (Leuzin, Glykokoll, Asparaginsäure, Tyrosin usw.) zu bilden — und zwar in dem richtigen Verhältnis zu bilden, durch deren Verkettung die Polypeptide, Peptone, Albumosen und schließlich die verschiedenen Eiweißkörper des Protoplasmas zu erzeugen. Es handelt sich offenbar dabei nicht nur um eigentliche Synthesen, sondern Hand in Hand gehen wohl damit viele der früher besprochenen Stoffwechselprozesse, Oxydationen, Reduktionen, Spaltungen usw. Daneben werden aber vielleicht noch andere Stoffumwandlungen vorkommen, die wir bisher nicht erwähnt haben, weil sie isoliert nicht beobachtet worden sind: So bilden manche Bakterien aus einer Zuckerart, z. B. Glykose, arabischen Gummi, in dessen Molekül die Galaktosegruppe stark vertreten ist. Diese Synthese setzt also **A t o m v e r s c h i e b u n g e n** voraus, wenn wir nicht annehmen wollen, daß die Glykose zu dem Zweck erst tiefer gespalten wird.

§ 67. **Zusammenfassung.** Aus unserer Darstellung folgt, daß wir geneigt sind, nicht nur die oberflächlichen und tiefen Spaltungen, die Oxydationen und Reduktionen, die Anhydridbildungen und Kondensationen, sondern ebenso auch die eigentlichen, unter starker Wärmebindung verlaufenden Synthesen auf Fermente zurückzuführen und weiter die Vermutung auszusprechen, daß diese Fermente sich auch, wenigstens begrifflich, von dem lebenden Protoplasma trennen lassen, d. h. ungeformte Fermente oder Enzyme seien. Die heutige Entwicklung der Enzymforschung spricht wenigstens nicht gegen diese Ansicht. So kennen wir auch verschiedene, den einfachen (hydrolytischen) oder tieferen Spaltungen (Gärungen) und Oxydationen durchaus vergleichbare Vorgänge, bei denen es bisher noch nicht gelungen ist, die Enzyme darzustellen, und bei denen wir sie trotzdem doch wohl aus Gründen der Analogie annehmen dürfen. Beispielsweise sind weder die Zymasen noch — meistens — die entsprechenden die alkoholische Vergärung der Disaccharide durch Bakterien vorbereitenden hydrolytischen Enzyme dargestellt worden. Ferner hat man, obwohl man die spaltende Wirkung der Hefe für Leuzin und andere Aminosäuren (unter Bildung von Fuselölen) kennt, weder im Hefepreßsaft noch in

der Azetondauerhefe das betreffende Enzym nachweisen können. Wir schließen daraus nur, daß sich der Darstellung vorläufig unüberwindliche Schwierigkeiten entgegenstellen, nicht aber, daß die Enzyme nicht gebildet werden, und denken, daß es sich ebenso mit den von uns vorausgesetzten oxydierenden und synthetischen Enzymen verhalten könnte. Im übrigen macht es unseres Erachtens wenig Unterschied, ob wir für die Stoffwechselvorgänge, das Vorhandensein von Enzymen oder das von „geformten Fermenten“ verantwortlich machen. Denn ob man die letzteren, wie man es früher liebte, als besondere, nur dem lebenden Protoplasma eigentümliche Kräfte bezeichnet oder ob man diese Kräfte, wie wir es vorziehen würden, in bestimmten, von dem Protoplasma ohne Zerstörung nicht trennbaren fermentartigen Seitenketten sucht, ist wohl ziemlich gleichgültig. Auf andere „theoretische“ Gründe gegen die Ausdehnung der Enzymtheorie auf die Synthesen geben wir, wie gesagt (§ 66), nicht viel.

Aus unserer Darstellung würde folgen, daß das Protoplasma der Kleinwesen — ebenso natürlich das der höheren Zellen — durch die Ausstattung mit Fermenten bzw. Enzymen zu seinen so verschiedenartigen Stoffwechselleistungen in den Stand gesetzt wird. Ihre Zahl ist sehr erheblich. So rechnen wir allein bei der Hefe schon jetzt einige Dutzend heraus (§ 89 u. 90). Ein Teil derselben scheint freilich nur spurenweise zur Wirkung zu gelangen, z. B. das Enzym der anaëroben Essigsäure- und Milchsäuregärung, während andere, wie Invertin, Maltase, Zymase offenbar besonders mächtig entwickelt sind. Einmal dieser Umstand, andererseits die Tatsache, daß die Stoffwechselleistungen vieler anderer Kleinwesen wieder nach anderer Richtung hin hervorragen — man denke z. B. an die zahlreichen Zersetzungen der Kohlenhydrate, die Milchsäure-, (anaërobe) Essigsäure-, Buttersäure-, Butylalkohol-, Sumpfgas-, Zitronensäure-, Oxalsäure-, Mannit- und Schleimgärung, die wohl sämtlich durch besondere Enzyme hervorgerufen werden — lassen darauf schließen, daß zwar die Anlagen zu enzymatischen Leistungen im allgemeinen in den Mikroben weit verbreitet vorkommen, daß aber in jeder Art nur einzelne Leistungen gewissermaßen zu Spezialitäten ausgebildet werden. Die Mannigfaltigkeit der Enzyme in jeder Zelle würde es mit sich bringen, daß sie sich oder ihre Wirkungen gegenseitig schädigten, wenn sie nicht vor Berührung geschützt würden. Das ist z. B. nachgewiesen für die Zymase, die im Hefepreßsaft durch die Endotryptase zerstört wird. Offenbar bestehen im lebenden Protoplasma Isolierungseinrichtungen. Man könnte ähnlich wie Hof-

meister¹⁾ die Zellen etwa als eine chemische Fabrik sich vorstellen, die aus einzelnen Laboratorien mit streng durchgeführter Arbeitsteilung bestände. Die Wände derselben würden vielleicht durch kolloide (lipoide?) Stoffe gebildet, an denen die Zelle so reich ist. Sobald wir allerdings versuchen, uns das Bild weiter auszumalen, geraten wir in Schwierigkeiten. So verträgt sich schon die Tatsache, daß so häufig durch die Selbstverdauung der ganze Verband der Zellen aufgehoben wird, schwer mit der Annahme einer ausreichenden Isolierung der Enzyme. Genügt doch schon die Ausschaltung der Lebenstätigkeit, d. h. in diesem Falle wohl der aufbauenden Fermente, z. B. durch schwache Antiseptika, um das oder die Verdauungsenzyme frei zu machen (§ 9). Auf der anderen Seite darf die Isolierung der Fermente nicht so weit gehen, daß das Ineinandergreifen der einzelnen Stoffwechselvorgänge verhindert wird. Wahrscheinlich bestehen also nicht nur einfache mechanische Hindernisse, sondern verwickelte Einrichtungen, und zwar hemmende²⁾, die die ordnungsmäßige Einzelarbeit der Enzyme ermöglichen, und wider andere, die ihr zweckmäßiges Zusammenwirken in den Zellen gewährleisten.

§ 68. (Fortsetzung) Gegenstoffe, Hilfsstoffe der Kleinwesen. Die Enzymtheorie hat so deutliche Vorzüge vor den früheren unklaren Vorstellungen über die „Protoplasmatätigkeit“ im Stoffwechsel, daß man deswegen mit ihr ganz zufrieden sein könnte. Immerhin dürfen wir uns nicht der Täuschung hingeben, daß wir durch sie das Lebensrätsel erklären. Wir schieben nur die Grenzen unserer Kenntnisse um einige Schritte weiter vor, bleiben aber nach wie vor über das, was jenseits der Grenze liegt, im Dunkeln. So wird uns schon die Freude an den Enzymen sehr beeinträchtigt durch unsere fast völlige Unkenntnis ihrer chemischen Natur, Wirkungs- und Entstehungsweise. Dieser Mangel gilt in ziemlich gleicher Weise für andere in den letzten Jahrzehnten ebenso oft genannte und studierte Bestandteile der Kleinwesen, ihre Eigenstoffe, Angriffs- und Impfstoffe, die wir hier als Antigene oder „Gegenstoffe“ zusammenfassen wollen. Mit den Enzymen haben sie außer den genannten leider negativen Eigenschaften erstens gemeinsam, daß sie für bestimmte biochemische Leistungen verantwortlich sind. Und zwar kann man diese Leistungen zum Teil wie die der Enzyme als

1) Die chemische Organisation der Zelle, 1901.

2) Vgl. die von Iwanoff gefundenen, die Selbstverdauung der Hefe hemmenden Körper (§ 92). Über die vermeintlichen Antifermente der Bakterien vgl. § 10.

A u s l ö s u n g e n, A n r e g u n g e n c h e m i s c h e r V o r g ä n g e, zum Teil als H e m m u n g e n von solchen bezeichnen. Im Stoffwechsel der Mikroben sind ihre Wirkungen zweiseitiger Natur, nämlich günstige, insofern sie das Leben der Mikroben vor Gefährdung von außen schützen, ungünstige aber, indem sie umgekehrt die Gefahren von außen heranziehen. Verständlicher wird uns das erst, wenn wir eine weitere, mindestens ebenso wichtige Leistung der verschiedenen Arten von Antigenen, die sie ebenfalls mit den Enzymen, mindestens mit vielen von ihnen gemein haben (§ 249), ihre Fähigkeit, Tiere zu immunisieren, spezifische Immunkörper (Antikörper, Gegenkörper) in ihnen zu erzeugen, ins Auge fassen. Die giftigen Antigene sind außerdem wegen der Krankheitserscheinungen, die sie im Tiere hervorrufen, für die Pathologie von großer Bedeutung, haben aber nach unserer Auffassung (§ 51) für das Leben der Mikroben, die sie erzeugen, keinen Wert¹⁾. Hier, wo wir es nur mit dem Stoffwechsel der Mikroben selbst zu tun haben, interessiert uns ihre Giftwirkung überhaupt nicht und das Immunisierungsvermögen der Gifte, Angriffsstoffe, sonstigen Impfstoffe und Enzyme nur deswegen, weil es uns nach der E h r l i c h s c h e n Seitenkettentheorie einen gewissen Einblick eröffnet in den chemischen Bau dieser Stoffe, und E h r l i c h diese Theorie auch benutzt hat, um daran Vorstellungen über den Bau des Protoplasmas und die Assimilation zu knüpfen²⁾. Die Antigene sind, wie Ehrlich es nennt, mit bindenden („haptophoren“) Gruppen ausgestattete Seitenketten des Protoplasmas der Mikroben, die dadurch, daß sie von den Mikroben losgelöst und Tieren einverleibt in entsprechende Seitenketten („Rezeptoren“) der tierischen Zellen eingreifen, diese aus dem Betrieb ausschalten und hierdurch mittelbar ihren Ersatz, ja ihre überreichliche Neubildung anregen. In das Blut abgestoßen stellen die tierischen Rezeptoren dann das vor, was wir Anti- oder Immunkörper oder auch Schutzstoffe nennen. Mit ihnen treten die Antigene, oder wie wir sie auch nennen können, solange sie an ihren Erzeugern, haften, die Rezeptoren der Mikroben, wieder in Wechselwirkung, indem sie sie ihrerseits an die Leiber der Mikroben ketten und dadurch entweder deren Vernichtung (durch Bakteriolyse, Bakterizidie, opsonische Beeinflussung und Freßtätigkeit) vermitteln oder sie als sogenannte Angriffsstoffe von den Leibern der Mikroben ablenken, deren Überleben und Wachstum ermöglichen. Wirken die Antikörper längere Zeit oder wiederholentlich — im Reagensglas oder im Tierkörper — auf die

1) Von den Eigengiften und Reizstoffen, die n i c h t immunisieren (s. u. S. 213), wird im folgenden zunächst abgesehen.

2) Vgl. Lit. darüber § 329, namentlich Münch. med. Wochenschr. 1909, 5. Zur Teleologie der Immunität vgl. S. 176, § 331 u. 334.

Mikroben, so können die letzteren unter Hyperplasie ihrer Rezeptoren (oder vielleicht auch umgekehrt unter Atrophie derselben, d. h. Rezeptorenschwund), ihre Widerstandsfähigkeit gegen die spezifischen Serumwirkungen verändern, sich gegen sie immunisieren, sich ihnen anpassen. Wir haben diese Theorie, die zunächst nur aufgestellt war, um die Vergiftungs- und Immunisierungserscheinungen im Tier zu erklären, in diesem Bande, bei Besprechung der Virulenz der Kleinwesen, ihrer Anpassungsfähigkeit an die Widerstandskräfte der Tiere genauer behandelt (§ 327—330). Ehrlich ist aber von Anfang an noch weiter gegangen und hat die Rezeptoren ganz allgemein mit der Ernährung, und zwar in erster Linie mit der Assimilation der Eiweißkörper in Verbindung gebracht. Unter diesen „Nutrirezeptoren“ soll es noch andere geben, die einfache Nährstoffe, wie Fette und Zuckerarten binden, ferner solche, die, ähnlich dem Hämoglobin, die Sauerstoffaufnahme bewirken. Den Nutrirezeptoren, die der Assimilation dienen, ständen dann noch „Chemorezeptoren“ zur Seite, die es ermöglichen, daß Arzneistoffe in den Zellen zur Wirksamkeit gelangen. Wir haben früher (§ 57) davon gesprochen.

So sehr diese Annahmen Ehrlichs geeignet sind, uns die Tatsachen der Empfänglichkeit und Widerstandsfähigkeit der höheren und niederen Wesen gegen spezifische Gifte und Arzneistoffe und namentlich die Erscheinungen der „Immunität“ zu erklären, so zweifelhaft ist die Übertragbarkeit derselben Vorstellungen auf die Ernährungslehre. Daß das Protoplasma für Nährstoffe gewisse Verwandtschaften hat, ist zuzugeben. Wir selbst nehmen ja an, daß bei den einfachen und verwickelten Synthesen unter dem Einfluß der Fermente eine Angliederung der Nährstoffe an die das Protoplasma zusammensetzenden Stoffe erfolgt und könnten uns ganz gut denken, daß auch die Nährstoffe, die der Dissimilation verfallen, eine Zeitlang, d. h. solange sie unter der Einwirkung der Fermente stehen, eben durch die Vermittlung der letzteren, in eine ähnliche, aber lockere Verbindung mit dem Protoplasma treten. Denn einerseits scheinen ja die — mindestens intrazellulären — Fermente echte, wenn auch mehr oder weniger fest gebundenen Protoplasmabestandteile (Seitenketten), andererseits Bedingung für jede Fermentwirkung eine vorübergehende Verbindung zwischen der zur fermentierenden Substanz und dem Ferment selbst zu sein. Ganz in der Luft schwebt aber die Voraussetzung Ehrlichs, daß es dieselben spezifischen bindenden Gruppen¹⁾ seien, die Eiweißstoffe assimilieren

1) Ebensowenig ist es bewiesen oder wahrscheinlich, daß die Enzyme durch die gleichen bindenden Gruppen, mit Hilfe derer sie Antienzyme er-

und Antigene bzw. Immunkörper binden. Vielmehr ist wohl wahrscheinlich, daß sich die Eiweißmoleküle in ähnlicher Weise, d. h. durch bekannte, nichtspezifische Bindegruppen miteinander verketten, wie die Aminosäuren zu Polypeptiden, Peptonen usw., die Hexosen zu Di-, Tri- und Polysacchariden. Auch die von Ehrlich neuerdings in Gemeinschaft mit Röhl und Gulbranson gefundene Tatsache, daß Trypanosomen gegen zwei verschiedene Sera widerstandsfähig sein können, daß aber die Behandlung mit beiden Seren zusammen ihr Wachstumsvermögen im Tiere aufhebt, braucht nicht so gedeutet zu werden, daß erst die beiden Antikörper die sämtlichen Nutrirezeptoren „besetzen“ und dadurch für die Assimilation untauglich machen, also als „Atrepsine“ wirkten, sondern kann in der bisher üblichen Weise durch Schädigung des Protoplasmas (Giftwirkung, Trypanolyse oder Trypanozidie) erklärt werden, wenn auch die Schädigung in diesem Falle keine so plötzliche, d. h. kräftige ist, wie sonst. Neu ist hier nur, daß erst die gemeinsame Tätigkeit zweier Seren die Wirkung auslösen soll. Wie die Giftwirkung der antiinfektiösen Seren bzw. Abwehrstoffe (Alexine) eigentlich zustande kommt, ist uns allerdings ja bisher noch ein Rätsel, obwohl wir wissen, daß die wirksamen Stoffe sich an den Mikrobekörper binden, daß sie ferner einen (fermentartigen?) Bestandteil, das Komplement, enthalten und obwohl wir für viele Fälle das morphologische Endergebnis der Vergiftung, die Bakteriolyse (§ 11) kennen. Die von Ehrlich entdeckte Tatsache gestattet es noch nicht, das Rätsel für gelöst zu halten und darauf so weitgehende Schlüsse zu gründen, wie dieser Forscher es tut. Bevor dieser Befund gemacht worden war, berief sich Ehrlich für seine Auffassung von der Bedeutung der Rezeptoren für die Ernährung eigentlich nur auf zwei Umstände: erstens darauf, daß die so mannigfaltigen Rezeptoren des tierischen Körpers doch eine Bedeutung im gewöhnlichen Stoffwechsel haben müßten, zweitens darauf, daß genuine Eiweißkörper allerart, nicht bloß Bakterien usw. im Tierkörper selbst Antigene seien, d. h. (präzipitierende und komplementbindende) Immunkörper erzeugten. Der erste Grund ist selbstverständlich ungenügend, da wir viele Einrichtungen im Tierkörper noch nicht deuten können, und außerdem die Möglichkeit vorliegt, den Rezeptorenreichtum des Tierkörpers für eine — im wesentlichen — zweckmäßige Schutzvorrichtung zur Beseitigung von Fremdstoffen zu halten. Der zweite Grund ist ebensowenig stichhaltig, denn es ist immer noch eine offene Frage, ob die Antigene selbst Eiweißkörper sind, und ob sie, selbst

zeugen oder binden, ihre (vorübergehende) Bindung an die Nährstoffe vollziehen (§ 249).

wenn man ihre Eiweißnatur anerkennen wollte, nicht doch nur *quantitativ wenig bedeutungsvolle Begleitstoffe* — wenn man will Seitenketten — gewöhnlicher, nicht antigener Eiweißkörper sind. Außerdem ist festgestellt, daß die antigene Eigenschaft der genannten Eiweißkörper im Darmkanal der Tiere fast völlig verloren geht, daß ihre spezifischen Bindegruppen also für die Assimilation gar nicht oder höchstens in geringstem Umfange in Betracht kommen. Ob das bei der Assimilation der Eiweißstoffe durch die Mikroorganismen sich ebenso verhält, wissen wir nicht, bekannt ist aber, daß denaturierte Eiweißstoffe, die nicht mehr antigen wirken, für die Ernährung der Kleinwesen mindestens ebenso, wenn nicht besser, geeignet zu sein pflegen, wie die genuinen.

Hat somit die *Ehrliche* Assimilationstheorie für uns nichts Überzeugendes, so erfahren wir durch die Seitenkettentheorie auch nichts über den Mechanismus der Bildung und Neubildung der Rezeptoren im Tiere und der Antigene im Mikroben. *Ehrlich* behilft sich damit, von „Regeneration“ im Überschuß zu sprechen, andere stellen diesen Vorgang der „Sekretion“ an die Seite. Das sind aber nur andere Ausdrücke für denselben, auch von uns oben im Unklaren gelassenen Prozeß der Neubildung.

Im vorstehenden haben wir abgesehen von den *nicht* immunisierenden Eigengiften (Kap. XVI) und Reizstoffen (§ 53 u. 331) der Mikroben, ebenso von den Selbstgiften (§ 47 u. 48) und giftneutralisierenden Stoffen (§ 57), den Farb- (§ 253) und Leuchtstoffen (§ 238), deren chemischer Bau und Bildungsweise ebenfalls unbekannt ist, und bei denen wir zwar wenigstens zum Teil auch Bindegruppen voraussetzen dürfen, aber doch nicht solche, die imstande sind, Immunkörperbildung anzuregen. Wir könnten sie mit den Enzymen und Antigenen als „Hilfsstoffe“ zusammenfassen. In ihrer äußeren Wirkung sind ihnen zum Teil gleichwertig die „Stoffwechselgifte“ (§ 48, u. 258 ff.) und manche Farbstoffe, sowie die Riechstoffe (§ 90, 153 ff., 173), deren chemische Natur und deren Entstehung im Stoffwechsel wir aber mehr oder weniger gut kennen. Daß diese Hilfsstoffe immer eine zweckmäßige Rolle im Leben der Mikroben spielen, soll übrigens durch den Namen nicht ausgedrückt sein. In den einzelnen Abschnitten gehen wir auf ihre vielfach noch zweifelhafte Bedeutung näher ein.

Kapitel VI.

Umwandlungen der Kohlenhydrate im Stoffwechsel.

§ 69. **Verzuckerung der Stärke. Diastase.** Die Kohlenhydrate sind nach Menge und Verbreitung die wichtigsten Nahrungsstoffe, weil der größte Teil der Pflanzen aus ihnen besteht. Ihre Bedeutung für die Ernährung ist ferner sehr groß, weil sie vorzüglich geeignet sind, das Kohlenstoffbedürfnis fast aller Mikroorganismen zu befriedigen (§ 33), und zwar ebensowohl als Bau- wie als Betriebsstoffe (§ 35). Wir behandeln ihre Umwandlungen im Stoffwechsel aber auch deswegen an erster Stelle, weil sie außerordentlich mannigfaltig sind, und, wie wir im vorigen Kapitel gesehen haben, ausgezeichnete Beispiele abgeben für die verschiedenen Arten von Stoffwechselvorgängen. Nacheinander werden wir besprechen die Verflüssigungen und Hydrolysen, Spaltungen, Oxydationen, Reduktionen, Anhydridbildungen und Kondensationen und schließlich die Synthesen, denen die Kohlenhydrate unter dem Einfluß der Mikroorganismen unterliegen.

Nachdem Kirchhoff 1811 gefunden hatte, daß Stärke durch Kochen in verdünnten Säuren in Dextrin und weiter in Traubenzucker übergeführt wird, und derselbe Autor 1815 beobachtet hatte, daß Gerstenmalz, also ein Pflanzenstoff, eine ähnliche Wirkung ausübte, gelang es Payen und Persoz¹⁾ im Jahre 1833 zuerst aus dem Malz die wirksame Substanz, die „Diastase“ durch Fällung mit Alkohol darzustellen. Die erste organische Kontaksubstanz, das erste Enzym, war damit gefunden. Bei Pflanzen und Tieren sind diastatische Wirkungen allgemein verbreitet, bei Mikroorganismen wurden sie zuerst von Nägeli²⁾ an nicht näher bezeichneten Bakterien, bei Marciano³⁾ an Bakterien, die auf der Hülle der Maiskeime vorkommen, von Wortmann⁴⁾ an Fäulnisbakterien, von Hüppe⁵⁾

1) Ann. de chim. et phys. 8. sér. 53.

2) Die niederen Pilze 1877, 12.

3) Compt. rend. ac. sc. 95.

4) Zeitschr. physiol. Chem. 6, 287.

5) Mitt. Gesundheitsamt 2. 342 und 367, 1884.

an Milchsäurebazillen (*B. aërogenes*) und Kartoffelbazillen, von Miller¹⁾ an Darmbakterien, von Bitter²⁾ an Choleraspirillen nachgewiesen. Marcano erhielt dieselbe Wirkung bei Kulturen, die er durch Filtration oder Chloroformzusatz von den lebenden Bakterien befreit hatte, Wortmann stellte das Enzym durch Extraktion der Bakterienmassen und Fällung mit Alkohol dar. Die umfangreichen Arbeiten von Fermi³⁾, die wir noch öfter zu zitieren haben werden, führten zu folgenden Resultaten:

Diastatische Fermente werden gebildet von	nicht gebildet von	Stärke wird unt. Säure- bildung zersetzt von
<i>Bac. anthracis</i> †	<i>Bac. cuniculicide</i> ?	<i>Bac. Fitz.</i> †
„ <i>ramosus</i> †	„ <i>Zopfii</i> ?	„ <i>megatherium</i> †
„ <i>Fitz</i> †	„ <i>typhi</i> ?	„ <i>violaceus</i> †
„ <i>subtilis</i> †	„ <i>diphtheriae</i> ?	„ <i>phosphoresc.</i> †
„ <i>megatherium</i> †	„ <i>phosporeſcens</i> ?	„ <i>pneumoniae</i> †
<i>Photobacterium</i> †	„ <i>pyocyaneus</i> ?	„ <i>cavida</i> †
<i>Spir. cholerae</i> †	„ <i>prodigiosus</i>	„ des Schweinerot- laufs †
„ <i>Finkler-Prior</i> †	„ <i>viscosus</i>	„ d. Milchsäure †
„ <i>Miller</i> †	„ der Frettchenseuche	<i>Spir. Metschnikoffi</i> †
„ <i>Deneke</i> †	„ der Schweineseuche	„ <i>Miller</i> †
<i>Micr. tetragenus</i> †	„ <i>cavida</i>	<i>Bac. cyanogenus</i>
„ <i>mastitidis bovis</i> †	„ <i>cyanogenus</i>	„ <i>viscosus</i>
<i>Actinomyces bovis</i> †	„ der Milchsäure	„ d. Frettchen- seuche
„ <i>alba</i> †	<i>Spir. Metschnikoffi</i>	<i>Spir. cholerae</i>
„ <i>violacea</i> †	<i>Micrococc. ascoformans</i>	„ <i>Finkler-Prior</i>
„ <i>albido-</i>	<i>Staphyl. pyog. citreus</i>	„ <i>Deneke</i>
„ <i>flava</i> †	<i>Streptothrix carnea</i>	<i>Microc. tetragenus</i>
„ <i>nigra</i> †	<i>Rosahefe</i>	<i>Oidium lactis</i>
<i>Bac. coli</i>	<i>Soorhefe</i>	
„ <i>aceticus</i>	<i>Oidium lactis</i>	
„ <i>pneumoniae</i>		
„ <i>violaceus</i>		
„ <i>mallei</i>		
„ der „gelben Milch“		
<i>Staphyl. cereus</i>		
„ <i>flavus</i>		
„Rote“ Hefe		
„Weiße“ Hefe		
<i>Trichophyton tonsurans</i>		

In dieser Tabelle bedeutet ein †, daß eine starke Reaktion erhalten wurde, ein ?, daß die Reaktion zweifelhaft war, gesperrter Druck, daß das Enzym aus der verflüssigten Gelatinekultur — nach Beseitigung der Gelatine durch verdünnten Alkohol — durch Fällung mittelst absoluten

1) Deutsche med. Wochenschr. 1885, 49.

2) Arch. Hyg. 5.

3) Arch. Hyg. 10 und Zentr. Bakt. 12. 20, 1892.

Alkohols dargestellt werden konnte. Im allgemeinen wurde das Vorhandensein diastatischer Wirkungen dadurch nachgewiesen, daß einige Tropfen von Bouillon-, Gelatine- oder Blutserumkulturen zu 4 ccm sterilisiertem Stärkekleister und 5 ccm Thymolwasser gegeben und die Mischungen nach 48 Stunden mit Fehlingscher Flüssigkeit auf Zucker geprüft wurden.

Aus den Experimenten folgt (Spalte 1 der Übersicht), daß Diastase von vielen Mikroorganismen auch auf stärkefreien Nährböden gebildet wird. Doch muß ihnen stets irgend ein Eiweißstoff als Nahrung geboten werden; auf Nährlösungen mit Asparagin oder Ammonsalzen erzeugte keine einzige Art eine Spur von diastatischem Enzym.

Nahm F e r m i die Bakterienkörper allein zu den Versuchen, so fielen die Proben sämtlich negativ aus, das Enzym scheint also in den Nährboden gelöst überzugehen, in den Leibern aber in nachweisbarer Menge, bzw. in freiem Zustande, nicht vorhanden zu sein. Daneben wurde noch festgestellt, wie sich die l e b e n d e n Mikroorganismen auf stärkehaltigem Nährboden (Kartoffelbrei) verhielten. Das Ergebnis (Spalte 3 der Übersicht) war auch hier kein anderes, nur trat häufig noch neben der Zuckerreaktion Säure auf, was sich wohl durch weitere Veränderungen des Zuckers (saure Gärungen, vgl. § 97 ff.) erklärt, nicht selten wurde freilich bei Mikroorganismen, die keine Diastase abscheiden, doch Säure gefunden. Die Erklärung dafür steht noch aus. Es wäre aber denkbar, daß in solchen Fällen die Säure unmittelbar, d. h. ohne vorhergehende hydrolytische Spaltung, aus der Stärke gebildet würde.

Die Bildungsbedingungen der Diastasen der Mikroorganismen haben sonst noch W o r t m a n n, K a t z ¹⁾ und W e n t ²⁾ studiert. W o r t m a n n kam an seinem allerdings nicht einwandfreien Material, das aus einem Bakteriengemisch bestand, zu dem Schluß, daß die Diastase nur gebildet würde bei Gegenwart freien Sauerstoffs und nur dann, wenn den Bakterien keine andere Kohlenstoffquelle außer der Stärke zu Gebote stände. Allgemeingültig sind beide Sätze jedenfalls nicht. F e r m i hat, wie bemerkt, den zweiten Satz widerlegt, später auch K a t z und W e n t. P e r d r i x ³⁾ und B o t k i n ⁴⁾ züchteten ferner Reinkulturen von anaëroben Bazillen, die sehr kräftige diastatische Fermente bildeten. Nach A c h a l m e ⁵⁾, der die Anaëroben einem vergleichen-

1) Jahrb. wiss. Bot. 31, 1898.

2) Ebenda 36, 1901.

3) Annal. Pasteur 1891.

4) Zeitschr. f. Hyg. 11.

5) Annal. Pasteur 1902.

den Studium unterworfen hat, verhielten sich noch einige andere Arten ähnlich, so daß man folgende Tabelle aufstellen kann (vgl. § 113).

Von den Anaëroben greifen

die Stärke an	nicht an
B. amylozyma (Perdrix)	B. des Rauschbrands
B. butyricus (Botkin u. a.)	B. des malignen Ödems
B. des Gelenkrheumatismus (Achalme)	B. botulinus
B. enteritidis sporogenes (E. Klein)	B. tetani
B. perfringens (Veillon und Zuber)	B. putrificus coli
B. orthobutylicus (Grimbert)	B. Legros
	B. emphysematosus (?).

Trotzdem also den Beobachtungen W o r t m a n n s eine Allgemeingültigkeit sicherlich nicht zukommt, hat die Arbeit von K a t z (s. o.) gezeigt, daß in der Tat bei einigen Mikroorganismen (Penicillium glaucum und Bac. megatherium) die Bildung der Diastase sehr erheblich beeinträchtigt wird durch die Anwesenheit von Zucker, Glyzerin, Weinsäure usw. im Nährboden. Doch müssen diese Stoffe in nicht zu geringer Konzentration geboten werden (1,5—3%). Die Diastase von Aspergillus niger wird dagegen kaum beeinflußt.

Die wenigen anderen Forscher, die sich sonst mit der Diastaseproduktion der Bakterien beschäftigten, kamen zu ziemlich ähnlichen Ergebnissen wie F e r m i. E i j k m a n ¹⁾ hatte bei Benutzung von Nähragarplatten, dem er Reisstärke beigemischt hatte, folgende Ergebnisse:

kräftige Wirkungen	mittlere Wirkungen	keine Wirkungen
Bac. anthracis	Bac. diphtheriae	Bac. typhi
„ megatherium	„ dysenteriae	„ coli
„ subtilis	„ ruber	„ mallei
Spir. cholerae		„ pertis
„ Metschnikoffi (!)		„ pyocyaneus
viele Schimmelpilze		„ prodigiosus
		„ indicus
		„ cyanogenus
		„ fluorescens liquefaciens
		„ mesentericus (!)
		Staphyl. pyogenes

Wesentliche Unterschiede gegenüber den früheren Untersuchungen ergaben sich also nur bei dem Bac. mesentericus (Kartoffelbazillus), der merkwürdigerweise nach E i j k m a n keine Diastase bildet und beim Spirillum Metschnikoffi.

Die kräftigen diastatischen Wirkungen vieler Schimmel-

1) Zentr. Bakt. 29. 22.

pilze wurden auch sonst noch, z. B. für *Aspergillus*, *Mucor* und *Penicillium* beobachtet (Gayon und Dubourg¹), Bourquelot²), Katz (s. o.)); bei den Pilzen der sogenannten japanischen, chinesischen und javanischen „Hefe“ ist sie so energisch, daß sie bei der Herstellung des Reisweins (oder besser -Punsches, Saké), der Sojabohnensauce (Soja) und des Sojabreis (Miso) usw. (vgl. § 96) technisch ausgenutzt wird zur Verzuckerung der Stärke (*Aspergillus oryzae* und *Wentii*, *Mucor Rouxii* und *javanicus*³)).

Die Hefepilze haben umgekehrt so gut wie gar keine diastatischen Kräfte. Die „rote“ und „weiße“ Hefe *Fermis* bilden Ausnahmen⁴).

Ob die Mikroorganismen, die keine freie Diastase absondern, nicht doch in ihren Zellen ähnliche Fermente enthalten, darüber fehlen Angaben. Die Untersuchung der „Preßsäfte“ (vgl. Zymase) könnte darüber Auskunft geben. Mindestens sollte man doch bei allen Mikroben, die Stärke aufspeichern (§ 27), auch diastatische Enzyme in ihrem Leibe voraussetzen.

Über die Erzeugnisse der diastatischen Fermente geben uns bisher fast nur die Untersuchungen Aufschluß, die mit der Diastase des Malzes vorgenommen worden sind, sie können deshalb nur mit einigem Vorbehalt auf die Mikroorganismen übertragen werden. Einstimmigkeit herrscht darüber, daß bei der diastatischen Spaltung der Stärke einerseits Dextrin, andererseits Maltose entsteht, d. h. ein gut lösliches Polysaccharid, das sich von der Stärke $(C_6H_{10}O_5)_{mn}$ wohl nur durch eine geringere Anzahl (n) Gruppen $C_6H_{10}O_5$ im Molekül unterscheidet und ein Disaccharid (Hexobiose = $C_{12}H_{22}O_{11}$), das durch weitere Verflüssigung und Aufnahme von Wasser (Hydrolyse) daraus entstanden ist (§ 60). Daneben tritt nach E. Fischer und Lintner stets noch ein zweites Disaccharid, die Isomaltose auf, was allerdings von Brown und Morris sowie von Pottevin⁵) bestritten wird. Glykose wird dagegen nur gefunden, wenn neben der Diastase ein maltosespaltendes Enzym, die

1) Annal. Pasteur 1887.

2) Kochs Jahresber. 1893, 276.

3) Calmette, Annal. Pasteur 1892; Wehmer, Zentr. Bakt., 2. Abt. 1 u. 2, 6 und 7; Kozai, ebenda 6; Kellner, Chem. Zeitg. 1895. 97; Prinsen-Geerlichs, ebenda 1896. 97; vgl. auch in Lafars Handb. 4. 260 und 5. 245.

4) Die Angabe von Oppenheimer (Fermente 2. Aufl. 222), Hefeninfuse enthielten diastatische Fermente, erklärt sich vielleicht aus Verunreinigungen oder aus der Verwechselung mit der Dextrinase, s. u. § 70.

5) Annal. Pasteur 1899. 796.

Maltase (auch „Glukase“ genannt) im Malze vorkommt, wie es beim Maismalz der Fall ist (vgl. § 79). Die Hauptschwierigkeit für die klare Auffassung der diastatischen Wirkung besteht darin, daß Dextrin kein scharf bestimmter Körper ist, wie die Maltose, sondern ein Übergangsprodukt von der Stärke zur Maltose, an dem man, je nach dem Stadium, in dem man es zu fassen bekommt, verschiedene Eigenschaften beobachtet.

Die am stärksten kondensierte Substanz ist die rohe Stärke. Sie wird von der Diastase sehr viel schwerer und unvollständiger angegriffen als die gequollene Stärke (Stärkekleister), die aus ihr beim Erwärmen mit Wasser entsteht. Nach *Maquenne*¹⁾ liegt das aber nur an ihrer physikalischen Struktur: wenn sie sehr fein zerrieben wird, verhält sie sich ähnlich der erhitzten Stärke. Der Stärkekleister löst sich zum größten Teil in Wasser und kann daraus durch Alkohol niedergeschlagen werden (Granulose, lösliche Stärke, Amylodextrin), der unlösliche Teil gibt die Reaktion der Zellulose (Stärkezellulose). Aus der Granulose gehen dann durch eine allmähliche weitere Verflüssigung (Depolymerisierung) des Moleküls die Dextrine hervor, zuerst die Erythrodextrine, die noch eine Jodreaktion geben, wie die Stärke selbst, aber sich nicht blau, sondern violett bis rot färben, dann bei weiterem Fortschritt des Prozesses die Achroodextrine, die überhaupt nicht mehr auf Jod reagieren. Bis hierher bedingte der Prozeß wesentlich physikalische Veränderungen, jetzt greift die Hydrolyse ein und bildet Maltose aus dem Dextrin. Man könnte sich denken, daß der erstere Vorgang auf ein besonderes Teilenzym der Diastase, die „Amylase“, der zweite auf ein anderes, die „Dextrinase“, zurückzuführen wäre. Beide wären im Malz enthalten und wirkten bis zum Ende zusammen. Da die Stärkekörner verschiedene Größe und Resistenz haben, entsteht das Dextrin erst allmählich, und ebenso schrittweise wird das gebildete Dextrin zu Maltose hydrolysiert. So kommt es, daß vom Beginn des Prozesses an Maltose nachweisbar ist. Man sollte annehmen, daß diese Menge beständig zunehmen müsse. Das ist aber nur bis zu einem gewissen Punkte der Fall. Allerdings wird sämtliche lösliche Stärke in Dextrin verwandelt, aber nur etwa zwei Drittel des Dextrins in Maltose und zwar je nach der Temperatur der Reaktion bald mehr bald weniger. Die Dextrinase ist, wie manche anderen Enzyme, nicht imstande, die Hydrolyse bis zu Ende zu führen, sondern ihre Wirksamkeit hört bei einem bestimmten Verhältnis des Produktes zu dem Ausgangsstoff auf. Wird also neue Stärke zugefügt, so wird auch diese wieder zum größten Teil verzuckert. Der hier entwickelten Theorie, die auf *Pottévin's* Forschungen aufgebaut ist, für deren Einzelheiten aber auf *Duciaux'* Darstellung²⁾ verwiesen werden muß, stehen eine ganze Anzahl anderer gegenüber. Auch *Wijsmann*³⁾ nimmt nach dem Vorgange von *Dubrunfaut* und *Cuisinier* in der Diastase zwei Enzyme an: die „Maltase“ soll Erythrogranulose (Erythrodextrin) neben Maltose erzeugen und auch das

1) Compt. rend. as. sc. 138. 375.

2) Mikrobiol. 2. 391 ff.

3) Koch's Jahresber. 1890, 155.

Maltodextrin in Maltose verwandeln, die „Dextrinase“ spaltet die Stärke und die Erythrogranulose in Maltodextrin (Isomaltose) und Leukodextrin (Achroodextrin). Für diese Auffassung spricht auch die Tatsache, daß aus Stärke unter dem Einfluß des Malzes bei Temperaturen bis zu 60° mehr Maltose als Dextrine entstehen, bei höheren Temperaturen umgekehrt die Dextrine überwiegen. Im ersteren Fall wirken beide Enzyme, im letzteren nur die Dextrinase, weil die Maltase bei 55—60° zerstört wird. Übrigens will W i j s m a n n beide Enzyme auch durch ihre verschiedene Diffusionsgeschwindigkeit und den verschiedenen Sitz im Gerstenkorn voneinander unterscheiden. B e i j e r i n c k ¹⁾ hat diese Theorie seinerseits dahin abgeändert, daß er die „Dextrinase“ nicht im Gerstenmalz vorgebildet ansieht, sondern sie erst aus einer „Granulase“, einem Enzym, das Maltose neben Achroodextrinen erzeuge, durch die Erhitzung entstehen läßt. B r o w n und H e r o n ²⁾ und B o u r q u e l o t ³⁾ erklären den Abbau der Stärke in folgender anschaulichen Weise: die lösliche Stärke habe etwa die Formel $(C_{12}H_{20}O_{10})_{10}$, sie gehe durch die Diastasewirkung unter Wasseraufnahme in Erythro-dextrin $(C_{12}H_{20}O_{10})_5$ und ein Molekül Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$ über. In derselben Weise vollziehe sich stufenweise die Abspaltung von Maltose und die Depolymerisierung des Dextrins, bis schließlich die Reaktion zum Stillstand komme, wenn 81% Maltose und 19% des letzten Achroodextrins $(C_{12}H_{20}O_{10})_2$ gebildet sei. Spätere Untersuchungen führten B r o w n und M o r r i s ⁴⁾ aber zu einer viel verwickelteren Theorie, wobei sie davon ausgingen, daß die lösliche Stärke aus 5 Dextrinkernen von der Zusammensetzung $(C_{12}H_{20}O_{10})_{20}$ beständen. Bei der Spaltung bildeten sich zahlreiche Zwischenprodukte aus Kombination von Amylinkernen $C_{12}H_{20}O_{10}$ und Amylosekernen $C_{12}H_{22}O_{11}$. L i n t n e r und D ü l l ⁵⁾ bezeichnen diese Körper als Gemische von Dextrinen (Amylo-, Erythro- und Achroodextrin) und Isomaltose, die sie als Vorprodukt der Maltose betrachten. Das Amylodextrin entspräche etwa der Formel $(C_{12}H_{20}O_{10})_{54}$, das Erythro-dextrin $(C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$ entstände daraus durch Wasseraufnahme, daraus ebenso das Achroodextrin $(C_{12}H_{20}O_{10})_5 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$ usw. R ö h m a n n ⁶⁾ hält wieder das Erythro-dextrin für ein Gemenge.

Wenn die Theorien der Diastasewirkung, die beim Arbeiten mit einem viel leichter erhältlichen Material, dem Malz, entstanden sind, so wenig Übereinstimmung zeigen, so würde man von vornherein kaum erwarten, daß sie erheblich gefördert werden könnten durch das Studium der Mikroorganismen, aus denen man die Enzyme viel schwerer in der nötigen Menge gewinnen kann. Immerhin bestände die Möglichkeit, daß in einzelnen Fällen die Verhältnisse hier einfacher lägen, als bei der Malzdiastase. In der Tat hat man, wie wir bald sehen werden,

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 229, 1895.

2) Liebigs Annalen 199.

3) Compt. rend. 104. 576.

4) Journ. chem. soc. 55 und 69.

5) Ber. chem. Ges. 26. 2533, 1893.

6) Ebenda 25. 3654.

Grund dazu, die Einwirkung eines das Dextrin allein verändernden Enzyms, der Dextrinase, bei einigen Hefepilzen anzunehmen. Das würde für die Zweienzymtheorie im Sinne *D u c l a u x s* sprechen, d. h. wir hätten in der Diastase zwei getrennte Enzyme, die *A m y l a s e* und *D e x t r i n a s e*. Auf der anderen Seite finden *L a b o r d e*¹⁾ und *P e t i t*²⁾, daß die Diastase des *Aspergillus niger*, des *Penicillium glaucum* und der *Eurotiopsis Gayoni*, und *W e n t*³⁾, daß diejenige der *Monilia sitophila* (aus Java) die Stärke in Dextrin und Dextrose (nicht Maltose) und ebenso das Malzdextrin und die Maltose in Dextrose verwandeln. Es ist allerdings fraglich, ob wir es hier mit einem einzigen Enzym der „Amylomaltose“ oder mit einer Mischung mehrerer zu tun haben. Jedenfalls muß man sich hüten, Resultate, die an dem einen Material gewonnen sind, ohne weiteres auf anderes zu übertragen: es gibt wahrscheinlich nicht bloß eine Diastase, sondern verschiedene, ähnlich aber nicht gleich wirkende, ebenso wie es mehrere Zellulasen, Pektinasen usw. gibt (s. u.). Am zweckmäßigsten ist es daher, bei der Bezeichnung der Enzyme stets den Ursprung anzugeben, also von Gersten-, Malz-, *Aspergillus*-, Milzbranddiastasen usw. zu sprechen. Als Beweis dafür kann auch das Verhalten der Bakteriendiastasen gegenüber hoher und niederer Temperatur gelten. Nach *F e r m i* (a. a. O.) wirken sie sämtlich bei 37° sehr kräftig; bei 4° C büßt das Ferment des Milzbrandbazillus und *B. ramosus* seine Wirkung völlig ein, während das des *Spirillum Finkler-Prior* gar nicht, die der *Spirillum Deneke* und *Miller* etwas geschwächt werden. Temperaturen von 50° verringern nur die Wirkung bei *Spir. Deneke*. Bei 56—60° lassen sich die Kulturen des Milzbrands, *Finkler-Prior* und *Deneke* sterilisieren, ohne ihre diastatische Kraft zu verlieren, das Enzym der Choleraspirillen wird aber dabei zerstört. Einstündige Erhitzung auf 70° vernichtet die Wirkung sämtlicher Diastasen. Alle diese Versuche wurden mit feuchten Enzymen angestellt, im trockenen Zustand behalten die Diastasen ihre Wirksamkeit selbst, wenn sie 15 Minuten auf 120—140° erhitzt werden.

Auch beim Zusatz chemischer Mittel zeigten sich Unterschiede. 3 prozentige Karbolsäure, gesättigte Salizylsäurelösung, 10 prozentige Soda hoben die Enzymwirkung nicht auf, 5 prozentige Salzsäure vernichtete sie beim Milzbrandbazillus, schwächte sie beim Choleraspirillum, ließ sie unberührt beim *Spir. Finkler-Prior*. Ein Vergleich

1) *Annal. Pasteur* 1897; vgl. *F e r n b a c h* in *Kochs Jahresber.* 1899. 305.

2) *Compt. rend. ac. sc.* 128. 1176, 1899.

3) *Jahrb. wiss. Bot.* 36, 1901.

mit dem diastatischen Ferment der Pankreasdrüse bewies *F e r m i*, daß dasselbe gegenüber schädigenden Einflüssen empfindlicher war wie die meisten Bakterienenzyme. Auch *L a b o r d e* findet Unterschiede zwischen der Amylomaltose der von ihm untersuchten drei Schimmelpilze.

Ob die Diastase identisch ist mit dem Enzym, mittelst dessen gewisse Chytridiaceen die Paramylonkörner der Euglenen (Flagellaten) lösen, ist unbekannt (vgl. *Z o p f*, Pilze S. 179).

Eine besondere Stellung nimmt offenbar ein von *S c h a r d i n g e r*¹⁾ beschriebener *Bac. macerans* ein, indem er aus Stärkekleister neben Säure, Azeton usw. zwei kristallisierbare Stoffe erzeugt, die durch ihre Reaktionen teils als Amylodextrin, teils als Amylose erscheinen. Nach der Ansicht der Verfasser verdankt der Mikrobe das seinem Auflösungsvermögen gegenüber pektinartigen Bindesubstanzen (§ 74) im Stärkekleister, die die in ihm vorgebildete Amylose freimachen sollen.

§ 70. Verzuckerung des Dextrins. Dextrinase. Wir haben eben gesehen, daß die Diastase nicht bloß die Stärke in Dextrin, sondern auch das Dextrin in Maltose verwandelt. Von vornherein war es naheliegend, diese Reaktionen verschiedenen Enzymen zuzuschreiben, die nebeneinander in der Diastase vorkämen, der Amylase und Dextrinase (*D u c l a u x*, s. o. S. 219). Diese Theorie erhält eine Stütze dadurch, daß es gelingt, nachzuweisen, daß bei vielen Hefearten ein Enzym im isolierten Zustande vorkommt, welches zwar Dextrin, aber nicht Stärke angreift. Gewisse Rassen des *Saccharomyces cerevisiae*, namentlich die Hefen „Logos“ und „Frohberg Oberhefe“ und „Unterhefe“ vergären einige (nicht alle) Dextrine zu Alkohol, sondern also wahrscheinlich „Dextrinase“²⁾ ab, die das Dextrin in Maltose verwandelt und dadurch gärfähig macht. Der *Schizosaccharomyces Pombe* und *octosporus* verhalten sich ähnlich (*L i n d n e r*³⁾). Dabei vergärt keiner dieser Pilze, wie es doch geschehen müßte, wenn sie Diastase produzierten, Stärke. Dargestellt ist die Dextrinase bisher nur von *P e t i t* in Form eines Auszuges von Preßhefe mit 3% Kochsalzlösung; es wird aber kaum möglich sein, sie von den übrigen hydrolytischen Enzymen der Hefe zu trennen. Da viele Bakterien Dextrin angreifen (vgl. saure Gärungen, § 100), könnte man annehmen, daß auch sie Dextrinase bildeten, doch erscheint auch die unmittelbare Zersetzung des Dextrins, ebenso wie die der Stärke (S. 216), des Glykogens, Inulins, der Zellulose usw. möglich.

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 22. 98, 1908.

2) Nicht zu verwechseln mit der Dextrinase *W i j s m a n s* (s. o. S. 220).

3) Wochenschr. f. Brauerei 1900, 49—51, vgl. § 86.

§ 71. **Inulinase.** Das Inulin, ein dem Amylodextrin vergleichbares Kohlenhydrat, das in manchen Pflanzen an Stelle der Stärke vorkommt, wird ähnlich wie das Dextrin (§ 70) von Hefepilzen vergoren, doch sind es wenige Arten oder Varietäten, so z. B. die oben genannte Hefe „Logos“ und der Schizosaccharomyces Pombe, ferner der Saccharomyces Marxianus (L i n d n e r u. § 86). Wir dürfen also wohl bei diesen ein Enzym, die „Inulinase“, voraussetzen, daß das Inulin in einen vergärbaren Zucker verwandelt. Wahrscheinlich ist das die Fruktose (Lävulose), der Fruchtzucker, in den das Inulin ja auch bei der Hydrolyse mit Wasser oder verdünnten Säuren zerfällt¹⁾. Daß Übergangsstoffe, wie die Dextrine beim Stärkezerfall, dabei gebildet werden, ist nicht festgestellt worden, aber wahrscheinlich. Jedenfalls werden sie von Dextrinen schon deshalb verschieden sein, weil der Saccharomyces Marxianus, der Inulin kräftig vergärt, Dextrin gar nicht angreift. Außer den genannten Hefen erzeugen Inulinase einige Pilze, z. B. der Aspergillus niger nach B o u r q u e l o t ²⁾ und Penicillium glaucum nach D e a n ³⁾. Die Malzdiastase läßt Inulin unberührt. Wie die Bakterien sich verhalten, ist unbekannt. Dargestellt haben G r e e n das Enzym aus Helianthus tuberosus und D e a n aus Aspergillus niger und Penicillium glaucum. Merkwürdigerweise soll es nur aus den Leibern der Mikroorganismen zu bekommen sein; man begreift dabei nicht, wie das schwer diffundierbare Inulin von ihnen angegriffen werden kann. Wahrscheinlich handelt es sich um ähnliche Verhältnisse, wie wir sie für die Saccharase und Maltase kennen lernen werden, die zwar recht fest in den Zellen sitzen, aber doch auch nach außen abgeschieden werden. Die Inulinase ist sehr empfindlich gegen Säuren und Alkalien, schon $\frac{1}{100}$ Normalschwefelsäure und $\frac{1}{10000}$ Normalkalilauge wirken schädlich. Das Optimum ihrer Wirkung liegt bei 55°; sie wird aber auch durch Temperaturen von 64° noch nicht geschädigt. Durch Kochen wird sie, wie fast alle Enzyme, zerstört. Für die Zersetzung des Inulins durch Bakterien gilt das bei der Dextrinase Gesagte.

§ 72. **Glykogenase.** Glykogen, die „tierische“ Stärke, die aber auch ein Bestandteil vieler Mikroorganismen ist (§ 27), wird durch Malzdiastase in Maltose, durch Speicheldiastase (Ptyalin), das auch noch ein maltosespaltendes Enzym enthält, in Traubenzucker ver-

1) Inulin verhält sich zur Fruktose, wie lösliche Stärke (Amylodextrin) zur Glykose.

2) K o c h s Jahresber. 1893. 276 und 283.

3) Botan. Gazette 1903 (nach O p p e n h e i m e r).

wandelt (C r e m e r ¹⁾). Man hat daraus den Schluß gezogen, daß die Diastase als solche imstande sei, Glykogen zu verzuckern. Das Gegenteil läßt sich schwer beweisen, aber auch die Möglichkeit kann nicht bestritten werden, daß noch ein besonderes Enzym, die „Glykogenase“, dazu nötig sei, das für gewöhnlich die Diastase begleite. Für diese Ansicht kann man die Tatsache anführen, daß es ein Enzym gibt, das zwar Glykogen, aber keine Stärke verzuckert. Ein solches ist in der Hefe enthalten. Zwar lassen nach A. K o c h und H o s a e u s ²⁾ Reinkulturen von Bier- und Preßhefe Kalbs- und Kaninchenglykogen unberührt, aber der Zellsaft der Hefe vergärt nach E. B u c h n e r (vgl. Zymase, § 89) das Glykogen, enthält also vielleicht ein hydrolytisches Enzym, das man Glykogenase nennen kann. Von der Zymase, dem Ferment der Alkoholgärung, ist es bisher allerdings noch nicht abgetrennt worden; es wäre nicht undenkbar, daß die Zymase selbst es wäre, welche die glykogenspaltende Fähigkeit besäße. Doch spricht für die gesonderte Existenz der Glykogenase wieder die Tatsache, daß es Mikroorganismen gibt, die zwar Glykogen verzuckern, aber den Zucker nicht vergären. Viele Schimmelpilze, aber auch manche Hefearten und Bakterien gehören hierher. Das läßt sich schon daraus schließen, daß das Glykogen in ihren Zellkörpern durch die Jodreaktion mikroskopisch nachweisbar ist, also im Stoffwechsel Verwendung finden muß. Direkte Versuche über das Verhalten dieser Mikroorganismen zu Glykogen scheinen freilich kaum gemacht worden zu sein. Nur A. K o c h und H o s a e u s haben bei ihren obengenannten Experimenten die Beobachtung gemacht, daß Bakterien, die sich zufällig ansiedelten, das Glykogen verbrauchten. Ob das solche Arten waren, die auch Stärke angriffen, wurde nicht festgestellt. Es entsteht weiter die Frage, ob diese extrazelluläre Glykogenase mit der intrazellulären der Hefe identisch oder ihr nahe verwandt ist, und ob der Zerfall des Glykogens nicht unmittelbar ohne vorhergehende Hydrolyse geschieht. Am einfachsten wäre es natürlich auch hier wieder, die Existenz verschiedener Enzyme mit ähnlichen Wirkungen anzunehmen (vgl. Invertase, § 78).

§ 73. Verflüssigung des Pflanzenschleims. Über die Verwandlungen, die Gummi und Pflanzenschleim ³⁾ durch Mikroorganismen erfahren, ist, wenn man von den Dextrinen (s. o. § 70) absieht, wenig

1) Münchn. med. Wochenschr. 1894. 26.

2) Zentr. Bakt. 16. 145.

3) Beide scheinen Verbindungen von Stoffen zu sein, die teils Hexosen ($C_6H_{12}O_6$), teils Pentosengruppen ($C_5H_{10}O_5$) enthalten. Ihre Zusammensetzung entspricht bald mehr der Formel $(C_6H_{10}O_5)_x$, bald $(C_5H_8O_4)_y$; sie sind entweder „Hexosane“ oder „Pentosane“. Vgl. Schleimgärung § 129.

bekannt. Daß eine Einwirkung stattfinden kann, ist wahrscheinlich, der umgekehrte Prozeß, die Verwandlung von Zucker in Schleim, wird jedenfalls sehr häufig beobachtet. Manche dieser Körper besitzen freilich eine sehr bedeutende Widerstandsfähigkeit. Darauf beruht die Verwendung der Schleime von Algen und Flechten (Agar-Agar, *Fucus crispus*) als Grundlage unserer bakteriologischen Nährböden. Nach allgemeiner Erfahrung sind sie so wenig angreifbar, daß z. B. der gründlich ausgewaschene Agar-Agar als Ersatz der rein mineralischen Kieselsäuregallerte dienen kann (§ 196). Dennoch gibt es Ausnahmen von der Regel. *G r a n* ¹⁾ fand unter den Wasserbakterien eine Art, die Agar-Agar (Gelose) verflüssigte, er nannte sie *Bac. gelaticus* und das Enzym, mit dem sie arbeitet „Gelase“ ²⁾. Es bilden sich dabei reduzierende Substanzen, also wohl Zucker, und die rote Färbung, die Jod im Agar hervorruft, tritt nicht mehr ein. Über andere Prozesse, die zu tieferen Veränderungen führen, vgl. § 117.

§ 74. **Pektinase.** Sehr weit verbreitet scheint dagegen bei den Mikroorganismen die Fähigkeit zu sein, Pektinstoffe³⁾, Substanzen, die an der Bildung pflanzlicher Membranen stark beteiligt sind, z. B. die sogenannte Mittellamelle zusammensetzen, zu verflüssigen. Von *d e B a r y* ⁴⁾ stammt wohl die erste Beobachtung dieser Art. Er isolierte aus den parasitischen Pilzen *Sclerotinia* (*Peziza*) *sclerotiorum* und *Sclerotinia trifoliorum* ein „*Pezizaenzym*“, das die Zellwandungen krautartiger Pflanzen zur Quellung und die Mittellamelle zur Lösung brachte. Durch Kochen verlor es seine Wirkung. *W a r d* ⁵⁾ fand ein ähnliches Enzym bei einer *Botrytis*-art, die eine Krankheit der Lilie hervorruft, und *V i g n a l* ⁶⁾ konstatierte die gleiche Wirkung bei dem gewöhnlichen Kartoffelbazillus. Wohl alle Bakterien und viele Pilze, die auf Pflanzen parasitisch leben, erzeugen dieses Enzym, das man

1) Botan. Jahresber. 1902. 297.

2) Nach *R i c h t e r* (Ber. bot. Ges. 1904. 494) verflüssigen auch Diatomeen den Agar.

3) Vgl. über diese *M a n g i n*, Compt. rend. ac. sc. 107. 146 und 110. 295 und die S. 85, Anm. 1, genannten Arbeiten. Während man früher den Pektinstoffen einen höheren Sauerstoffgehalt zuschrieb, sind sie nach neueren Untersuchungen Kohlehydrate, die den Gummi- und Pflanzenschleimen nahestehen und bei der Hydrolyse Hexosen oder Pentosen abspalten. Meist handelt es sich wohl nicht um reine Substanzen, sondern um Mischungen. Von der Zellulose unterscheiden sie sich dadurch, daß sie aus den mit Säuren vorbehandelten pflanzlichen Membranen durch Alkalien leicht gelöst werden (pektinsaurer Kalk s. u.).

4) Bot. Zeitg. 1886, 22—27.

5) Ann. of bot. 1888.

6) *Le bac. mesentericus vulgatus*. Paris 1889.

mit *Bourquelot*¹⁾, der es auch aus dem Malz darstellte, als „Pektinase“ bezeichnen kann. Wir geben eine Übersicht der bisher mit Erfolg daraufhin untersuchten Mikroorganismen:

Es bilden Pektinase:

<i>Micrococcus</i> (?) <i>phytophthorus</i>	nach <i>Frank</i> (Zentr. Bakt. 2. Abt. 3. 57 und 4. 98).
<i>Bac. amylobacter</i>	<i>van Sensus</i> (Kochs Jahresber. 90. 137).
<i>Bac. (Astasia) asterosporus</i>	<i>A. Meyer</i> (Flora 97. 188).
<i>Bac. carotovorus</i>	<i>Jones</i> (Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 1—2 und 14. 257).
<i>Bac. der Kartoffelfäulnis</i>	<i>Wehmer</i> (eb. 4. 693).
<i>Pseudomonas destructans</i>	<i>Potter</i> (eb. 7. 282).
<i>Bac. coli communis</i>	<i>Laurent</i> (Ann. Pasteur 1899).
„ <i>fluorescens putidus</i>	„
„ <i>typhi</i>	„
„ <i>enteritidis</i>	„
„ <i>fluorescens liquefaciens</i>	<i>Lepoutre</i> (eb. 1902).
„ <i>mesentericus</i>	„
„ <i>mycoides</i>	„
„ <i>subtilis</i>	<i>van Hall</i> (Bejdragen tot de Kennis den bakterieele Plantenzickten Amsterdam. Dissert. 1902).
„ <i>mesentericus vulgatus</i>	„
„ <i>omnivorus</i>	„
„ <i>atrosepticus</i>	„
<i>Pseudomonas Iridis</i>	„
„ <i>Syringae</i>	„
<i>Bac. intercellularis</i> (Wundfäulnis)	<i>Spieckermann</i> (Landwirtsch. Jahrb. 1902).
<i>Penicillium glaucum</i>	<i>Behrens</i> (Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 521).
<i>Botrytis cinerea</i>	„
<i>Mucor stolonifer</i>	„
„ <i>hiemalis</i>	<i>Behrens</i> (eb. 8. 4—10).
<i>Cladosporium herbarum</i>	„

Es sind also darunter auch eine ganze Anzahl von Mikroorganismen, die gewöhnlich keine Pflanzenparasiten sind, es allerdings, wie wir in § 356 sehen werden, unter Umständen werden können.

Über die Darstellung und Wirkungsweise der Pektinase belehren uns vor allem die Arbeiten von *Bourquelot*, *Potter*, *Laurent*, *van Hall*, *Spieckermann* und *Jones* (s. o.). Sie zeigen uns, daß man trotz den im ganzen ähnlichen Wirkungen doch

1) Journ. Pharm. Chim. 1898 und 1899, vgl. Kochs Jahresber. 1898, 324 und 337.

nicht von einer einheitlichen Substanz sprechen darf. So konnten Potter und Laurent ihr Enzym mittelst Hindurchschickens durch Bakterienfilter gewinnen, van Hall gelang das nur mit starker Abschwächung und Spieckermann überhaupt nicht. Jones reinigte es durch wiederholte Alkoholfällung. Manchmal erwies sich das Enzym empfindlich gegen Reaktionsveränderungen und Chloroformzusatz, andere Male nicht. Stets scheint allerdings eine schwachsaure Reaktion am günstigsten zu wirken. Besonders interessant ist, daß die Enzyme der einzelnen Mikroben sich ungleich verhielten gegenüber den Pektinstoffen der verschiedenen Pflanzen. Stärke und Zellulose wurden mit einigen Ausnahmen, die sich wohl durch die gleichzeitige Gegenwart von Diastase und Zellulase erklären, nicht angegriffen. Die Wirkung der Enzyme auf die natürlichen Pektinstoffe der Pflanzen (rohe Kartoffel-, Rübenscheiben u. dgl.), besteht darin, daß die Zellmembranen aufquellen, aber nur die Zwischensubstanzen gelöst werden, wodurch die Zellen meist auseinanderfallen. Dabei entstehen nach Bourquelot aus der durch Auskochen von Pflanzenteilen bei 110° hergestellten Pektinlösung unter dem Einfluß des Enzyms reduzierende Stoffe, und die Gerinnbarkeit der Lösung geht verloren. Spieckermann, der das Enzym auf eine gallertartige Pektinkalklösung wirken ließ, sah Verflüssigung eintreten. Die Produkte der Zersetzung verdienen noch näher festgestellt zu werden; wenn wir die reduzierende Substanz für Zucker halten, so scheint er nur in geringer Menge zu entstehen.

Nach van Hall wird die Pektinase vom *B. subtilis*, trotz gutem Wachstum auf Zuckernährböden, die als Stickstoffquelle nur Ammonsulfat oder Kaliumnitrat enthalten, gar nicht gebildet, wenig bei Darreichung von Asparagin, mehr auf Pepton- und am meisten auf Fleisch- und Würzagar. Beim *Bac. mesentericus vulgatus* waren diese Unterschiede aber nicht zu spüren.

§ 75. **Pektingärung.** Technische Anwendung findet die Pektinase bei der sogenannten Röstung (Rotte) des Flachses und Hanfes¹⁾.

Durch sie werden die Gewebszellen (Bastfasern, Gefäßbündel), die nachher als Gespinnstfasern dienen, voneinander getrennt. Je nachdem man die Pflanzenstengel dabei bloß anfeuchtet oder in Wasser einlegt, unterscheidet man die Tau- oder Wasserröste. Van Tieghem²⁾ hatte für den Erreger der dabei auftretenden Gärung, die er mit der Zellulosegärung identifizierte, den anaëroben *Bac. amylobacter Tréculs* gehalten. Daß hier von einer Veränderung der Zellulose nicht die Rede sei, sondern nur

1) Vgl. dazu auch Behrens in Lafars Handb. 3. 269.

2) Compt. rend. 88. 205.

von einer solchen der Pektinstoffe, hatte zwar schon Kolb ¹⁾ erkannt, aber erst Friess ²⁾, ein Schüler Winogradskys, brachte 1895 den Sachverhalt wieder zu Ehren und züchtete den Erreger der Flachsröste in Reinkultur. Es ist ein großes anaërobes Stäbchen von 1 : 10—15 μ , das in 2—3 μ dicken Endanschwellungen eiförmige Sporen bildet und nur mit Schwierigkeit auf mit Kreide eingeriebenen Kartoffelscheiben zu züchten war. Der Bazillus vergärt bei Gegenwart von Pepton Trauben-, Rohr-, Milchzucker und Stärke, nicht bei Gegenwart von Ammoniaksalzen. Viel leichter vergärt er dagegen selbst im letzteren Fall Pektin und Pektinsäure. Zellulose greift er gar nicht an (vgl. Omelianski ³⁾). J. Behrens ⁴⁾ hat bei der Wasserröste des Hanfes ein anaërobes Stäbchen, das kleine Ketten bildet und bei der Sporenbildung spindelförmig anschwillt, gefunden. Dieses „Clostridium“ wird durch Jod blau gefärbt und ähnelt dadurch, sowie durch seine sonstigen Eigenschaften dem Bac. amylobacter der früheren Autoren. Auf den gewöhnlichen festen Nährböden war es nicht zu züchten, es wuchs allerdings in Mischkulturen auf Stärkenährböden, aber erst nach vielen Versuchen gelang einmal die Reinkultur auf Oblaten, die mit Peptonsalzlösung getränkt waren. Die Abimpfung davon ergab, daß Glykose, Galaktose, Fruktose, Rohrzucker, Milchzucker, Stärke und Pektin vergoren wurden, nicht Xylose, Arabinose, Zellulose, Gummi arabicum, Quittenschleim, Kalziumlaktat. Die Mittellamelle des Hanfes und Flachses (pektinsaurer Kalk) wird durch das Clostridium unter Gasbildung in eine weiche schleimige Masse verwandelt und schließlich verflüssigt. Ob außer Pepton noch andere stickstoffhaltige Stoffe zur Ernährung geeignet sind, ist fraglich. Zu den Produkten der Gärung gehört Buttersäure. Bei der Tauröste fand Behrens nicht dieselben Bakterien, sondern in erster Linie den Mucor stolonifer wirksam. Durch ihn scheint es nicht zu einer eigentlichen Gärung, d. h. Zersetzung unter Gasentwicklung zu kommen. Die Zellulose greift der Schimmelpilz nicht an, wohl aber das als Verunreinigung bei der Röste gelegentlich in Form schwarzer Flecke auftretende Cladosporium herbarum. Nach Behrens sind bei der natürlichen Wasserröste stets zu Anfang auch fakultativ anaërobe Bakterien im Spiel und erzeugen eine schleimige Gärung, die nichts mit dem Röstprozeß selbst zu tun hat, sondern eine Salpetervergärung zu sein scheint. Die Erreger der Röste finden sich schon auf den Hanf- und Flachsstengeln vor; denn sterilisierte Stengel mit nicht sterilisiertem Wasser zusammengebracht rösten nicht, wohl eine sterilisierte Stengelaufschwemmung, die mit nicht sterilisierten Stengeln geimpft wird.

Die Angabe von Human ⁵⁾, daß alle möglichen Bakterien (vgl. Liste auf S. 226) die Röste verursachen, beruht nach Behrens ⁶⁾ auf einem Irrtum. Nur Bac. asterosporus sei allenfalls dazu imstande. Die positiven Ergebnisse Humans erklären sich vielleicht daraus, daß er den Hanf bei seinen Versuchen trocken sterilisierte, wodurch die

1) Ebenda 66. 1024.

2) Ebenda 121. 742.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 36. 1904.

4) Ebenda 8. 4—10 mit Lit.

5) Annal. Pasteur 1902.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 16/17.

Sporen des Clostridiums nicht abgetötet wurden. Störmer¹⁾ isolierte durch Anreicherung in flüssigen Nährböden und Pasteurisierung bei der Wasserröste des Hanfes ein dem Fribesschen ähnliches köpfchensporenbildendes Bakterium, das er Plectridium pectinovorum nannte. Auch dieses ist ein strenger Anaërobier, der Pektinsubstanzen und andere Kohlenhydrate, auch Pentosen, nicht aber Zellulose unter Bildung von Kohlensäure und Wasserstoff, Essig- und Buttersäure neben Spuren von Baldrian- und Milchsäure zersetzt.

Beijerinck und van Delden²⁾ züchteten vier verschiedene Arten Granulobakter aus gärendem Lein (*Gr. pectinovorum*, *urocephalum*, *saccharobutyricum*, *butyricum*), betrachten aber nur die beiden ersten als Erreger der Pektingärung, Bredemann³⁾ will aber alle diese „Arten“ untereinander und mit den übrigen beweglichen Buttersäurebazillen (*Bac. amylobacter*) identifizieren. Nach ihm wäre die Fähigkeit, das Pektin anzugreifen, ebenso veränderlich, wie die, andere Kohlehydrate zu zersetzen, Stickstoff zu fixieren u. a. m. (vgl. § 113 ff.). Ob er in dieser Beziehung nicht doch zu weit geht, steht dahin. Jedenfalls scheint es Bredemann selbst noch nicht gelungen zu sein, den Pektin nicht vergärenden Buttersäurebakterien dies Vermögen zu verschaffen.

Nach alledem besteht die Röste im wesentlichen in einer Lösung der Mittellamelle, deren enzymatischer Ursprung zwar wahrscheinlich, aber von den Autoren nur bei den Pilzen nachgewiesen worden ist. Dazu gesellt sich, wenn anaërobe Bakterien den Prozeß verursachen eine Vergärung der Spaltprodukte des Pektins (Pentosen und Galaktose?), die einer Buttersäuregärung (§ 113 ff) ähnelt. Bei der Tauröste, die durch Schimmelpilze bedingt wird, fehlt die letztere Gärung. Scharding⁴⁾ hat als Verunreinigung von Nährböden einen sporenbildenden Bazillus gefunden, der rohe Kartoffeln auflöste und dabei neben Alkohol, Säuren und Gasen, Azeton erzeugte; ob aus der Stärke oder den Pektin- oder den Eiweißstoffen, war ungewiß. Buttersäure und Fäulnisgeruch fehlten (vgl. § 110).

§ 76. Zellulase (Zytase). Die Zellulose wird durch Mikroorganismen ebenso wie durch rein chemische Mittel viel schwerer angegriffen als die übrigen Polysaccharide. So sind auch die § 74 u. 75 genannten Bakterien ohne Wirkung auf sie, und von den Schimmelpilzen äußern nur Botrytis und die verwandten Sklerotinien, sowie Aspergillus oryzae (Newcombe⁵⁾) und einige seltenere von van Iterson⁶⁾ ge-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 13, 1904.

2) Arch. Néerlandaises. 1906, 2. ser. 9. 418 bei Bredemann Anm. 3.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 547.

4) Wiener klin. Wochenschr. 1904, 8.

5) Ann. of Botan. 1899.

6) s. § 123. Nach Koning (*Humicole Fungi* usw. Verhandl. Akad. Wetensch. Amsterdam 1903, 2. Sect. IX, 7) soll aber unter anderen humusbewohnenden Pilzen auch *Penicillium glaucum* auf reinem Filtrierpapier mit einer Spur Ammoniumnitrat zum Wachstum kommen, also die Zellulose (unter Oxydation) angreifen.

fundene Arten eine solche, enthalten also vielleicht neben der Pektinase auch Zellulase oder „Zytase“, wie Brown und Morris¹⁾ das ähnliche Enzym der keimenden Gerste genannt haben. Von anderen Pilzen hatte man schon längst holzzersetzende Eigenschaften mikroskopisch nachgewiesen (Hartig²⁾), ohne der Frage auf chemischem Wege näher zu treten. Erst Kohnstamm³⁾ zeigte, daß der aus den Zellen des Hausschwamms (*Merulius lacrymans*) dargestellte Preßsaft echte Zellulose löste. Ob die „Hadromase“, die Czapek⁴⁾ auf ähnliche Weise aus *Pleurotus pulmonarius* und *Merulius lacrymans* durch Auspressen und Fällen mit Alkohol in fester Form gewonnen hat, identisch mit der Zytase oder „Zellulase“ ist, bleibt zunächst fraglich. Der Autor selbst faßt sie als besonderes Enzym auf, das mit der Zellulase vergesellschaftet ist und ihre Wirkung vorbereitet, indem sie die glykosidartige Verbindung der Zellulose mit dem Hadromal, die den Hauptbestandteil des Holzes ausmacht, erst spaltet (vgl. § 155).

Während im allgemeinen Bakterien nur Pektinase, nicht Zellulase bilden, scheint unter gewissen Umständen doch auch von ihnen ein Enzym erzeugt zu werden, das Zellulose angreift. Van Sensus⁵⁾ gelang es, aus Wasser, in dem faulende Rüben zerrieben waren, mit Alkohol einen Stoff zu fällen, der in alkalischer Lösung bei 37° nach mehrtägiger Einwirkung unter Chloroformzusatz die Zellulose in Bohnenschnitten teils auflöste, teils deutlich anfraß. Die Bakterienart, von der dies Enzym stammte, konnte der Autor aus dem Gemisch nicht isolieren; die von ihm rein gezüchteten Arten (*B. amylobacter*, s. o. § 75) griffen höchstens die Pektinstoffe an. Der Befund van Sensus' steht bisher allein da, obwohl man eigentlich voraussetzen könnte, daß die Zellulase bei der Zellulosevergärung (§ 117) und Zelluloseoxydation (§ 123), die durch Bakterien verursacht wird, zur Vorbereitung dieser Zersetzung regelmäßig abgesondert würde. Immerhin ist das hier ebensowenig nachgewiesen, wie es bei der Vergärung der übrigen Kohlehydrate (außer Stärke) durch Bakterien regelmäßig geschehen ist.

Die Produkte der Zellulasewirkung sind vorläufig ebenso unbekannt wie die der Pektinase. Die Annahme von Grütz⁶⁾, daß dabei Mannose entstehe, beruht nur auf einer Vermutung. Beijerinck⁷⁾

1) Journ. chem. soc. 57. 497, 1890.

2) Zersetzungserscheinungen des Holzes 1878.

3) Dissert. Erlangen 1900.

4) Ber. botan. Ges. 1899. 141.

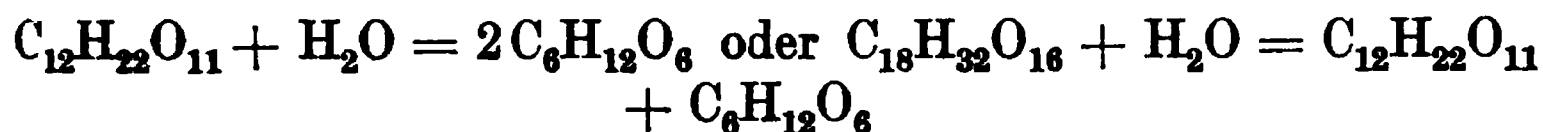
5) Kochs Jahresber. 1890. 138.

6) Ber. bot. Ges. 1894. 60, vgl. auch Kochs Jahresber. 1899. 329.

7) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 239.

beobachtete, daß die Zellulose vor ihrer Lösung in einen Körper verwandelt wird, der wie Stärke mit Jod blau gefärbt wird. Daß die sogenannten Humusstoffe, die bei der Vermoderung der Pflanzenteile übrigbleiben, etwa Nebenprodukte der Zellulosezersetzung seien, ist noch nicht festgestellt, wenn es auch möglich ist, auf chemischem Wege sie aus Kohlehydraten herzustellen (§ 118). Wahrscheinlich wird es übrigens nicht eine Zellulase, sondern eine ganze Reihe derartiger Enzyme geben; nach *Reinitzer*¹⁾ greift z. B. die keimende Gerste nur Hemizellulosen an.

§ 77. **Hydrolyse der Di- und Trisaccharide.** Während bei den bisher besprochenen Prozessen der Verflüssigungsprozeß, die Depolymerisierung, an erster Stelle steht und die Spaltung unter Wasseraufnahme (Hydrolyse) erst nachträglich aufzutreten scheint, ist der letztere Vorgang das Wesen der Sache bei der hydrolytischen Spaltung der Di- und Trisaccharide, die nach der Formel



verläuft.

Die verschiedenen isomeren Disaccharide (Hexobiosen) zerfallen also in Monosaccharide (Hexosen), als deren ätherartige Verbindungen sie zu betrachten sind²⁾, und zwar, um nur die bekannteren zu nennen:

Saccharose (Rohrzucker, Saccharobiose), in Glykose (Traubenzucker, Dextrose) und Fruktose (Fruchtzucker, Lävulose),

Maltose (Malzzucker, Maltobiose) in 2 Teile Glykose,

Trehalose (Mykose) ebenfalls in 2 Teile Glykose,

Melibiose in Glykose und Galaktose,

Laktose (Milchzucker, Laktobiose) ebenfalls in Glykose und Galaktose. Das Trisaccharid **Raffinose** (Melitriose) zerfällt in Melibiose und Fruktose.

Diese Spaltungen können ebensogut durch verdünnte Mineralsäuren, wie durch Enzyme erfolgen. Man bezeichnet diese am besten nach den jetzt ziemlich allgemein angenommenen Grundsätzen (vgl. § 60) als Saccharase, Maltase, Trehalase, Melibiase, Laktase und Raffinase. Alle diese Enzyme sind bei Mikroorganismen nachgewiesen worden, kommen aber wohl sämtlich auch in höheren Pflanzen und Tieren vor. Ihre Isolierung ist freilich bei weitem noch nicht überall gelungen.

1) Zeitschr. phys. Chem. 23.

2) Über die Eigenschaften der einzelnen Zuckerarten vgl. die chemischen Lehrbücher. Über ihr Verhalten zur alkoholischen Gärung s. § 86 u. 87, zur sauren Gärung § 100.

§ 78. **Saccharase (Invertase).** Die Saccharase ist am längsten bekannt und zwar unter dem Namen „ferment inversiv“, unter dem es von Berthelot¹⁾ 1860 zuerst dargestellt wurde (Invertin). Der Name stammt daher, daß unter dem Einfluß des Enzyms der rechtsdrehende Rohrzucker in den linksdrehenden „Invertzucker“ (Dubrunfaut 1830, Biot 1833) verwandelt wird, der eine Mischung von gleichen Teilen schwächer rechtsdrehenden Traubenzuckers und stärker linksdrehenden Fruchtzuckers ist. Später ist die ältere Bezeichnung durch die Namen Invertase, Sucrase oder Saccharase ersetzt worden. Das Enzym wurde zuerst bei der Hefe gefunden. Die meisten gärfähigen Hefearten erzeugen es, wie vor allem die Arbeiten von E. Chr. Hansen dargetan haben (§ 85 u. 86), Ausnahme machen nur die Gruppen des Sacch. albicans (Soorpilz), Sacch. apiculatus, viele Milchzuckerhefen und die nicht gärungsfähigen Arten (Sacch. Mycoderma, viele Torulaarten²⁾). Auch viele Schimmelpilze invertieren den Rohrzucker, insbesondere kräftig der Aspergillus niger und Penicillium glaucum, nicht aber Mucor (Gayon³⁾, Bourquelot⁴⁾, Fermi und Montesano⁵⁾, ferner die Monilia sitophila Wents⁶⁾. Von Bakterien besitzen nach Fermi und Montesano nur wenige die Fähigkeit, Invertin zu bilden, nämlich Bac. megatherium, Bac. kiliensis, Proteus vulgaris, fluorescens liquefaciens und in wechselndem Maße das Spir. cholerae und Metschnikoffi. Viele Dutzende anderer Bakterien und alle Strahlenpilze erwiesen sich als unwirksam, darunter auch die Milzbrand- und Milchsäurebazillen, denen von früheren Forschern (Gayon, Hüppe⁷⁾) invertierende Kraft zugeschrieben worden war. Doch besitzen nach anderen Erfahrungen Leuconostoc mesenterioides und andere Schleimbildner (§ 128), ferner das Bact. aceti und xylinum (§ 135), nach Kalischer⁸⁾ auch Bazillen aus der Heubakteriengruppe invertierendes Vermögen. Ebenso gelang es E. Buchner und Meisenheimer (§ 101) mit ihrem Dauerpräparat des Bac. Delbrückii (der „langen Milchsäurebazillen“) Inversion zu erzielen. Manche andere Bakterien aber,

1) Compt. rend. ac. sc. 51. 980.

2) Auch im Bier ist es regelmäßig enthalten. Daher benutzt Bau die Inversionsprobe zur Feststellung der Pasteurisierung im Bier (Woch. Brauerei 1902. 44).

3) Compt. rend. 86.

4) Ebenda 97.

5) Annali d'igiene 1894. 383 und Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 482 u. 542. 1895.

6) Jahrb. wiss. Bot. 1901, 36.

7) Mitteil. Gesundheitsamt 2.

8) Arch. Hyg. 37.

die Rohrzucker sehr gut vergären, spalten ihn sicher nicht vorher durch ein hydrolytisches Enzym, so der *Bac. pneumoniae* nach Grimbert (§ 98).

Der Nachweis invertierender Wirkungen bei Mikroorganismen gelingt nach F e r m i am einfachsten, wenn man 2—4 Wochen alte Kulturen in 4 prozentiger Saccharosebouillon der Reduktionsprobe unterwirft. Nur bei *Sacch. candidus* (*Monilia candida*) gelingt die Probe nicht, weil hier, wie wir gleich sehen werden, der Rohrzucker erst intrazellulär invertiert und gleich vergoren wird.

Ein anderes von F e r m i und M o n t e s a n o angewandtes Verfahren besteht darin, daß man die Mikroorganismen 14 Tage lang in einer Glyzerinpeptonbouillon kultiviert, die Kulturen dann mit gleichen Teilen einer 10 prozentigen Lösung von Rohrzucker in 2% Karbolsäure versetzt und wieder 14 Tage bei 37° hält. Die Reduktionsprobe entscheidet dann über das Vorhandensein eines invertierenden Enzyms. Da der Versuch im ersten wie im zweiten Falle übereinstimmend ausfällt, so dient er zugleich als Beweis dafür, daß das Enzym zu seiner Bildung nicht die Gegenwart von Rohrzucker verlangt. Statt der Peptonbouillon können übrigens auch eiweißfreie, nur aus Mineralsalzen, Ammontartrat und Glyzerin zusammengesetzte Nährlösungen ohne wesentliche Änderung des Resultats benutzt werden. Nur die Menge des Invertins scheint herabgesetzt zu sein. Eine dritte Methode beruht auf der Verwendung von Kulturfiltraten. F e r n b a c h ¹⁾ hat dieses Verfahren mit wechselndem Glück versucht: während das Hefeinvertin durch das Chamberlandfilter hindurchging, wurde das Enzym des *Aspergillus niger* im Filter zurückgehalten. F e r m i und M o n t e s a n o hatten auch mit diesen Mikroorganismen stets Erfolg, wenn sie sehr alte Kulturen benutzten. F e r n b a c h schlägt für *Aspergillus niger*, der freilich sehr viel mehr Invertin produziert, als Bakterien, vor, die Invertin enthaltenden Flüssigkeiten mit 50 prozentiger Rohrzuckerlösung zu versetzen, die Reaktion auf einen Gehalt von 1% Essigsäure zu bringen, das Gemisch eine Stunde lang bei 56° C zu halten und danach die Menge des Invertzuckers durch Reduktion zu bestimmen. Bei dieser Temperatur und Reaktion verläuft die Inversion am schnellsten. Für die Invertine der Hefen liegt nach F e r n b a c h das Temperaturoptimum bei 54—56°; das Säureoptimum schwankt zwischen 1 und 0,02% Essigsäure, ein Beweis, daß wir es hier mit verschiedenen Enzymen zu tun haben. Auch andere Erfahrungen sprechen in demselben Sinne.

Wie F e r m i und M o n t e s a n o stellte W e n t für seine *Monilia*

11) Ann. Pasteur 890. 641.

fest, daß Saccharase auch bei Ernährung des Pilzes mit Maltose, Glykose, Glyzerin, Essig-, Milch-, Äpfelsäure, Pepton gebildet wird.

Fernbach verdanken wir ferner sehr interessante quantitative Untersuchungen über die Bildung und Absonderung der Invertase während des Wachstums der Pilze. Auf die verwickelte Methode, mittelst deren er dabei die Menge des Enzyms feststellte, können wir hier nicht eingehen. Die folgende Tafel faßt die Ergebnisse eines Versuchs zusammen, in dem die vom *Aspergillus niger* in 100 ccm Raulinscher Nährlösung gebildete Invertase bestimmt wurde. Es muß dabei bemerkt werden, daß als Invertaseeinheit diejenige Enzymmenge bezeichnet wurde, die imstande war, 0,20 g Rohrzucker binnen einer Stunde bei 56° und 1% Essiggehalt der Flüssigkeit zu invertieren.

Kulturdauer in Tagen	Rohrzucker in g			Säure als Weinsäure berechnet in g	Invertase in „Einheiten“ ber.		Gewicht der Pilze in g
	unberührt	invertiert	verbraucht		in der Flüssigkeit	in den Zellen	
0	4,44	0	0	0,170	0	0	0
1	1,36	2,36	0,92	0,293	2	58	0,65
2	0,22	1,65	2,57	0,368	3	47	1,265
3	0	0,7	3,74	0,267	5	45	1,78
4	0	0	4,44	0,143	10	44	1,65
5	0	0	4,44	0,135	13	35	1,61

Die Invertase wurde sowohl in der Flüssigkeit als in den Zellen selbst bestimmt; die letztere wurde dadurch aus den Zellen frei gemacht, daß der Pilzrasen mit Sand gründlich zerrieben, in destilliertem Wasser aufgeschwemmt und unter Zusatz einer Spur Senföl zur Konservierung durch Papier abfiltriert wurde. Der Versuch ergab, wie man sieht, das überraschende Resultat, daß die Menge der Invertase innerhalb der Pilzzellen schon am ersten Tage das Maximum erreicht und von da stetig abnimmt, während die in die Flüssigkeit ausgeschiedene Enzymmenge am ersten Tage, obwohl schon der größte Teil des Zuckers invertiert ist, sehr gering ist und erst mit dem Alter der Kultur und dem Verschwinden des Zuckers zunimmt. Bemerkenswert ist, daß gleichzeitig mit der Zunahme der Invertase in der Flüssigkeit das Gewicht des Pilzrasens abnimmt. Man darf daraus wohl schließen, daß die Inversion selbst wesentlich innerhalb der Zellen verläuft und die Ausscheidung der Inver-

tase ein Zeichen der Zellauflösung ist. Versuche mit verschiedenen Heferassen ergaben Fernbach ähnliche Resultate. Die Bestimmung des in den Zellen vorhandenen Enzyms gelang hier freilich nicht auf dieselbe einwandfreie Weise, wie bei den Schimmelpilzen — weil dem Verfasser noch nicht die Buchnersche Methode der Preßsaftgewinnung zur Verfügung stand, durch welche die Invertindarstellung am sichersten gelingt (vgl. § 89) — immerhin ließ sie sich dadurch ermöglichen, daß man die Hefe von der Kulturflüssigkeit trennte und tage- und wochenlang mit destilliertem Wasser mazerierte. Je jünger die Hefekultur, desto schwieriger trennen sich die Enzyme von den Zellen. Man muß nach Fernbach bei dem Prozeß Sorge tragen, daß er im luftleeren Raume erfolgt, weil sonst der größte Teil des Enzyms durch den Luftsauerstoff zerstört wird. Auch diese Versuche mit Hefe beweisen also, daß das Invertin wesentlich innerhalb der Zellen wirkt, und erst mit dem Absterben derselben frei wird. Dieselbe Erfahrung machten alle Forscher, die sich seit Berthelot mit der Darstellung der Invertase aus Hefe beschäftigten und wandten darum zur Abscheidung des Enzyms zelltötende Mittel, wie Äther, Chloroform, Alkohol, Toluol, Erhitzen im trockenen Zustand oder konzentrierte Salzlösungen, insbesondere neutrales weinsaures Kalium (Gayon) an.

Bei den Bakterien ist die Bildung der Invertase noch nicht in gleich vollständiger Weise studiert worden. Es könnte das vielleicht am besten geschehen mit Hilfe von Preßsäften, die nach Buchners Methode zu gewinnen wären. Lassen doch die Erfahrungen von Fermi und Montesano darüber kaum einen Zweifel, daß auch diese Mikroorganismen das Enzym recht festhalten und erst in älteren Kulturen an die Kulturflüssigkeit abgeben.

Eine Ausnahmestellung nimmt die Inversion des Rohrzuckers durch die *Monilia candida* ein, insofern als sie in den Kulturen nicht, wie bei den anderen Hefepilzen, nachweisbar ist, obwohl auch diese Hefe den Rohrzucker vergärt. Man hatte früher daraus den Schluß ziehen wollen, daß auch eine direkte Vergärung des genannten Zuckers ohne vorhergehende Inversion möglich sei. Gerade hier trifft diese Möglichkeit aber sicher nicht zu.

E. Fischer und Lindner¹⁾ haben bewiesen, daß invertierendes Ferment auch von dieser Hefe gebildet wird. Sie konnten Inversion erzielen, wenn sie die Hefe gründlich trockneten und dann unter Toluolzusatz auf Rohrzuckerlösung wirken ließen oder wenn

1) Ber. chem. Gesellsch. 28. 3034.

sie frische, mit Glaspulver zerriebene Hefe anwandten. Auch im Preßsaft fanden E. Buchner und Meisenheimer¹⁾ dementsprechend das Enzym.

Das Studium der Geschwindigkeit, mit der die Inversion des Rohrzuckers verläuft, hat Anlaß gegeben zu wichtigen Feststellungen, betreffend die Wirkungsweise der katalytischen Substanzen überhaupt. Wir werden auf sie in dem Kapitel, das von den Enzymen im allgemeinen (§ 241) handelt, zurückkommen.

Das Optimum der sauren Reaktion liegt für die einzelnen Säuren in verschiedener Höhe, so z. B. nach Fernbach für die Essigsäure zwischen 0,2—10⁰/_∞, für die Milchsäure zwischen 0,1—0,5⁰/_∞, für die Oxalsäure zwischen 0,05—0,5⁰/_∞, für die Schwefelsäure zwischen 0,025—0,2⁰/_∞.

Kanitz²⁾ hat nachgewiesen, daß diese scheinbare Regellosigkeit verschwindet, wenn man den Dissoziationsgrad der Säuren berücksichtigt: stets erweisen sich die gleichen Mengen freier Wasserstoffionen wirksam.

Die Invertasen sind verschieden empfindlich gegen störende Einflüsse. Nach Fernbach³⁾ wird das Enzym, das durch Mazeration aus *Aspergillus niger* gewonnen ist, schon bei gewöhnlicher Temperatur (s. o.), besonders aber bei höherer Temperatur, z. B. bei 56°, bei der die Reaktion am schnellsten verläuft, und in alkalischer Lösung durch den Sauerstoff der Luft geschädigt. Erhitzen auf 70° vernichtet die Wirkung. Er fand aber für die Hefe, daß das Enzym, solange es noch in den Zellen steckt, widerstandsfähig ist, selbst gegen die Kochhitze. Fermi und Montesano zeigten, daß alte Kulturen von Bakterien durch einstündige Erhitzung auf 65°, solche von Hefepilzen durch die Temperatur von 70°, die von Schimmelpilzen erst durch ein- bis zweistündige Einwirkung der Siedehitze ihre Inversionsfähigkeit verlieren. Wahrscheinlich erklärt sich das zum Teil aus der verschiedenen Zähigkeit, mit der die Enzyme in den Zellen festgehalten werden, denn die Verfasser machen gleichzeitig die Bemerkung, daß filtrierte Kulturen viel weniger Widerstand leisten. In den Zellen ist die Invertase vielleicht nicht als solches enthalten, sondern als ein Vorstadium (zymoplastische Substanz, Proenzym). Aber auch in wäßriger Lösung bestehen Unterschiede, je nachdem die Flüssigkeit außerdem Rohrzucker oder Eiweißstoffe enthält oder nicht: im ersten Falle vertragen die Enzyme auch

1) Zeitschr. physiol. Chem. 40, 1903.

2) Pflügers Arch. 100. 548.

3) Ann. Pasteur 1889.

der Bakterien längere Erhitzung auf 60—70°, während sie im letzteren vernichtet werden. *Fermi* und *Montesano* deuten das wie andere Forscher dahin, daß das Enzym im „aktiven“ Zustand weniger leicht zerstört werde, als im „inaktiven“. Säuren wie Alkalien schädigen nach *Fermi* und *Montesano* ebenfalls die Invertase der Schimmelpilze weniger als die der Hefe.

Einen weiteren Unterschied fanden *E. Buchner* und *Meisenheimer* beim Vergleich der Invertase des Preßsaftes der gewöhnlichen Hefen und der *Monilia candida*: die letztere ging nicht durch Pergamentpapier hindurch, wie die erstere (s. o. *Fernbach*, S. 233).

§ 79. **Maltase.** Das zweite der hydrolytischen Enzyme, die Maltase, ist zuerst unter dem Namen „Glukase“ bekannt geworden. *Cuisinier*¹⁾ fand 1886 bei Verzuckerung von Mais und Maismalz viel Traubenzucker, während bekanntlich die Verzuckerung von Gerste durch Gerstenmalz neben Dextrin nur Malzzucker ergibt. Er nahm deshalb in dem Maismalz neben der Diastase ein zweites Enzym, die „Glukase“ an. *Géduld*²⁾ stellte sie, allerdings nicht in reinem Zustand, aus dem Maismalz dar und bewies, daß sie Maltose in Traubenzucker spaltete. Später wurde ein ähnliches Enzym von *Beijerinck*³⁾, *Röhm ann* und *Bial*⁴⁾ in tierischen und pflanzlichen Säften, von *Bourquelot*⁵⁾ bei *Aspergillus niger*, von *Lintner*⁶⁾, *Beijerinck* und *E. Fischer*⁷⁾, in der Hefe gefunden, und erhielt den passenden Namen Maltase. Sehr wahrscheinlich gibt es auch hier wieder nicht eine, sondern mehrere verschiedene Maltasen (*E. Fischer*⁸⁾).

Nur die maltosevergärenden Hefen enthalten anscheinend die Maltase (§ 86), also die Gruppen des *Saccharomyces cerevisiae*, der *Monilia candida* und des *Sacch. albicans* (Soorpilz). Wie sich die übrigen Schimmelpilze außer *Aspergillus niger* und *Monilia sitophila* (*Went*⁹⁾) und die Bakterien verhalten, ist unbekannt. Wahrscheinlich kommen auch unter ihnen Maltasebildner vor, da viele die Maltose vergären.

Was die Bildung der Maltase („Maltoglukase“) anlangt, so ist sie nach *Went* etwas mehr von der Art der Ernährung abhängig, als die der Saccharase, doch findet sie statt auch bei Gegenwart von vielen

1) Nach *Géduld*, *Kochs Jahresber.* 1891. 250.

2) Ebenda.

3) *Zentr. Bakt.* 2. Abt. 1, 1895.

4) *Ber. chem. Ges.* 25. 3654 und 27. 3251.

5) *Journ. anat. physiol.* 1886. 162; *Kochs Jahresber.* 1893. 276.

6) *Zeitschr. f. Brauerei* 1892.

7) *Ber. chem. Ges.* 28. 1429.

8) *Zeitschr. phys. Chem.* 26.

9) *Jahrb. wiss. Bot.* 1901. 36.

anderen Kohlenhydraten und Pepton. Dabei ist die Produktion in hohem Grade unabhängig von der Wachstumsstärke des Pilzes.

Die Maltase ist noch fester an die Zellen gebunden als die Invertase; sie läßt sich aus ihnen in ähnlicher Weise gewinnen, wie es oben beschrieben wurde. Der Prozeß der Maltosespaltung verläuft also auch wesentlich innerhalb der Zellen. Zum Nachweis der Hydrolyse empfiehlt sich nach E. Fischer, die Hefe auszuwaschen, sie gründlich zu trocknen und dann unter Zusatz von Thymol, Toluol oder Äther (nicht von Chloroform) auf Malzzucker wirken zu lassen. Ihrer Darstellung nach ist die Maltase gewöhnlich vergesellschaftet mit der Saccharase. Man kann nach R ö h m a n n die letztere von ersterer trennen, indem man die Flüssigkeiten, die beide Enzyme enthalten, durch Alkohol niederschlägt, wieder löst und nochmals niederschlägt. Da die Maltase gegen Alkohol empfindlicher ist als die Saccharase, bleibt letztere schließlich allein zurück. Die umgekehrte Trennung ist kaum möglich; um die Maltase rein zu gewinnen, müßte man daher Hefen verwenden, die wohl Maltase aber nicht Saccharase vergären, also z. B. den Soorpilz oder den *Schizosaccharomyces octosporus*.

Gewöhnlich wird angenommen, daß die Maltase auch die Fähigkeit habe, Dextrin in Glykose zu verwandeln. Das ist aber nach dem, was wir oben bei Gelegenheit der Dextrinase ausgeführt, zum mindesten sehr zweifelhaft. Es kann sich hier um Vermischung zweier Enzyme handeln. — Die Widerstandsfähigkeit der Maltase ist nicht nur gegenüber Alkohol geringer als die der Saccharase, sondern auch gegen Erhitzung. Nach L i n t n e r und K r ö b e r ¹⁾ wird die erstere aus Hefe schon bei 55° zerstört; am kräftigsten wirkt sie bei 40°. B o u r q u e l l o t ²⁾ findet allerdings die *Aspergillismaltase* viel resistenter, er konnte sie dadurch sogar von der Trehalase (§ 80) trennen, daß er den Pilzauszug auf 64° erhitzte. Die Maltase vertrug das, während die Trehalase zerstört wurde. Der Schluß liegt nahe, daß die Maltase der Hefe und des *Aspergillus* verschieden sind. Auch die Angaben über das Verhalten der Hefemaltase stimmen freilich nicht überein. Nach L i n t n e r und K r ö b e r hält sie sich in wäßriger Lösung nur wenige Tage; vielleicht liegt das teilweise an der Schädigung durch freien Sauerstoff, H i l l ³⁾ konnte sie wenigstens in verschlossener Flasche Monate lang ohne wesentliche Abschwächung aufbewahren. Merk-

1) Ber. chem. Ges. 28. 1050.

2) Compt. rend. ac. sc. 116. 826.

3) Journ. chem. soc. 1898.

würdig ist die nachteilige Wirkung des Chloroforms auf die Hefemaltase (s. o.). Für die Aspergillismaltase konnte sie H é r i s s e y¹⁾ nicht bestätigen. — Eine theoretisch sehr wichtige Umkehrung der Hefemaltasewirkung, wobei Maltose aus Glykose entsteht, findet nach Hill dann statt, wenn die letztere im Überschuß (zu 75% und mehr) vorhanden ist. In reinen 40 prozentigen Glykoselösungen wurden bis zu 15% in Maltose übergeführt. Man hat dadurch einen experimentellen Anhaltspunkt gewonnen für die Möglichkeit des Aufbaus des zusammengesetzten aus einfachem Zucker in der Zelle: auch diese wäre also enzymatischer Art. Nach Emmerling²⁾ soll allerdings nicht Maltose, sondern Isomaltose entstehen.

§ 80. Trehalase. Ein Disaccharid, das ebenso wie die Maltose in zwei Moleküle Glykose gespalten wird, ist die Trehalose (Mykose), die in Pilzen und der syrischen Manna vorkommt. Nach Bourquelot³⁾ sondern Aspergillus niger und andere Schimmelarten (Penizillien) ein Enzym, die Trehalase, ab, das die Spaltung verursacht. E. Fischer⁴⁾ fand sie auch im Grünmalz und — allerdings nur in geringer Menge — in einigen Hefen (vgl. auch Kalanthar⁵⁾ und Lindner⁶⁾). Nach Bau⁷⁾ wäre das Verhalten der Hefe gegen Trehalose ein zu unregelmäßiges und ihre Spaltung zu langsam, als daß man sie einem echten Enzym zuschreiben könnte. Er denkt eher an eine Wirkung des Protoplasmas. Damit scheint uns wenig gewonnen zu sein. Es liegt näher, sich vorzustellen, daß das Enzym selbst gewöhnlich nur in geringer Menge und vielleicht nur unter bestimmten Bedingungen gebildet wird. Jedenfalls gibt es einige Mikroorganismen, wie Aspergillus niger, Monilia candida (Sacch. cand.), Monilia variabilis, Mucor Rouxii (Amylomyces), die Trehalose recht kräftig und regelmäßig angreifen (Lindner). Bei der Monilia sitophila Wents⁸⁾ wird die Trehalase nicht, wie die übrigen zahlreichen Enzyme dieses Pilzes nach außen abgeschieden, läßt sich auch aus zerriebenen Myzel nur schwer in Lösung gewinnen, haftet vielmehr dem unlöslichen Rückstand an.

§ 81. Melibiase. Weiter verbreitet bei Hefen ist die Melibiase, die ein bei Hydrolyse der Raffinose (§ 83) entstehendes Disaccharid,

1) Compt. rend. soc. biol. 1896. 915.

2) Ber. chem. Ges. 1901. 600.

3) Compt. rend. ac. sc. 116. 826.

4) Zeitschr. physiol. Chem. 26.

5) Ebenda.

6) Wochenschr. f. Brauerei 1900.

7) Kochs Jahresber. 1899. 112.

8) Jahrb. wiss. Bot. 1901. 36.

die Melibiose, in Galaktose und Glykose zerlegt. B a u ¹⁾ hatte ursprünglich angegeben, daß sich die sogenannte Unterhefe von der Oberhefe durch die Bildung von Melibiase unterschiede (§ 86). Im allgemeinen stimmt das auch, doch kommen Ausnahmen vor, insbesondere fehlt den Weinhefen, die Unterhefen sind, gewöhnlich die Melibiase (L i n d n e r ²⁾). Die Frage, ob die Melibiase nicht vielleicht identisch ist mit einem anderen Enzym, z. B. der Maltase, ist auch aufgeworfen und verschieden beantwortet worden. Wenn man die Identität annimmt, dann muß man natürlich voraussetzen, daß es verschiedene Maltasen gibt, von denen die einen nur die Maltose, die anderen Maltose und Melibiose spalten (vgl. E. F i s c h e r ³⁾). Bei dem heutigen Zustand unserer Kenntnisse ist eine sichere Entscheidung nach der einen oder anderen Richtung nicht zu geben. Im Interesse einer klaren Darstellung liegt es aber unzweifelhaft, wenn wir vorläufig wesentlich verschiedene chemische Leistungen als besondere Enzyme gebunden betrachten. Nachweislich kommen einer und derselben Zelle eine ganze Anzahl von Enzymen zu, das Verständnis dafür wird nicht davon berührt, ob acht oder zehn nebeneinander angenommen werden. Erst wenn ganz erhebliche Gründe gegen die Verschiedenheit zweier Enzyme sprechen, werden wir für ihre Identität eintreten. Einen solchen Grund würde z. B. die Tatsache abgeben, daß zwei verschiedene chemische Leistungen regelmäßig nebeneinander, nie getrennt voneinander beobachtet werden. Die Unmöglichkeit, zwei oder mehr in derselben Lösung angenommene Enzyme zu trennen, will bei den mangelhaften Mitteln, die uns bis jetzt für die Darstellung dieser Stoffe zur Verfügung stehen, gar nichts besagen.

§ 82. **Laktase.** Die Umwandlung in Galaktose und Glykose erleidet auch ein zweites, praktisch viel wichtigeres Disaccharid, der Milchzucker (Laktose). B e i j e r i n c k ⁴⁾ führte sie zuerst auf ein besonderes Enzym, die Laktase zurück, nachdem er die hydrolytische Spaltung des Milchzuckers bei dem Sacch. Kefyr⁵⁾ und Sacch. tyricola

1) K o c h s Jahresber. 1894. 141 und 159.

2) Mikr. Betriebskontrolle 1901. 344.

3) Zeitschr. phys. Chem. 26

4) Zentr. Bakt. 6. 44.

5) Nicht zu verwechseln mit dem Sacch. Kefyr von F r e u d e n r e i c h s (Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1896), der Milchzucker erst vergärt, wenn er durch die Einwirkung des im Kefyr vorhandenen Streptococcus lacticus (s. u.) hydrolysiert ist. Danach entsteht der Alkohol im Kefyr aus zwei Quellen, einmal aus der direkten Vergärung durch Milchsäurehefe und zweitens aus der Symbiose zwischen Milchsäurebakterien und gewöhnlichen Hefen (s. u. M a z u n und L e b e n).

wahrscheinlich gemacht hatte. Erst E. Fischer¹⁾ gelang hier wie in anderen Fällen der sichere Nachweis dieser Spaltung, dadurch daß er die entsprechenden Ozazone darstellte, und gleichzeitig die Darstellung des Enzyms durch Ausziehen von Kefyrkörnern mit Wasser und Fällung mit Alkohol. Weniger leicht — am besten durch Verreibung mit Glaspulver oder nach Chloroformeinwirkung — erhält man die Laktase aus Reinkulturen solcher „Milchzuckerhefen“, weil sie hier fester mit den Zellen verbunden ist (E. Fischer, Dienert²⁾, Mazé³⁾). Im Preßsaft einer armenischen Mazunhefe (s. u.) erhielten E. Buchner und Meisenheimer⁴⁾ eine Laktase, die wie die Invertase der *Monilia candida* durch Pergament nicht diffundierte.

Wichtig ist, daß es Fischer und Armstrong⁵⁾ mit Hilfe von Hefelaktase gelang, aus einer konzentrierten Lösung von Glykose und Galaktose einen milchzuckerähnlichen Körper (Laktose oder Isolaktose) zu gewinnen. Es scheint sich danach um einen umkehrbaren Vorgang zu handeln, der für die Synthese des Milchzuckers von Bedeutung sein dürfte (vgl. Maltase S. 239).

Die allermeisten Hefen enthalten keine Laktase und sind infolgedessen nicht imstande, den Milchzucker zu vergären (§ 86). Außer den beiden schon genannten Arten, die in Kefyr und Käse leben, kommen noch in Betracht⁶⁾ die Milchhefe Duclaux⁷⁾, der *Saccharomyces acidilactici* Grotenfeldts⁸⁾, der *S. lactis* Adametz⁹⁾ die Hefen Weigmanns¹⁰⁾ und Jensens¹¹⁾ aus Butter, eine Hefe aus saurer Milch¹²⁾, der *Sacch. fragilis*, den Jörgensen¹³⁾ ebenfalls im Kefyr fand, ferner Hefen aus kaukasischem und armenischem Mazun (Kalanthariaz¹⁴⁾, Lindner¹⁵⁾). Schließlich hat Mazé (s. o.)

1) Ber. chem. Ges. 27. 2991 und 3481.

2) Compt. rend. 129. 63.

3) Annal. Pasteur 1903. 19.

4) Zeitschr. physiol. Chem. 40, 1903.

5) Ber. chem. Ges. 35, 1902.

6) Vgl. Literatur und eigene Studien bei Heinze und Cohn, Zeitschr. f. Hyg. 46, 1904.

7) Annal. Pasteur 1887. 573.

8) Fortschr. d. Medizin 1889. 131.

9) Zentr. Bakt. 5. 116. 1889.

10) Milchzeitung 1890. 743.

11) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 137, 1902.

12) v. Freudenreich und O. Jensen, Zentr. Bakt. 2. Abt. 3. 545, 1897.

13) Bei Klöcker, Gärungsorganismen 1900.

14) Kochs Jahresber. 1898. 322.

15) Mikr. Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben 1901. Neben den Milchzuckerhefen kommen auch im Mazun gewöhnliche Hefen vor und milchzuckerspaltende Bakterien (s. u.).

neuerdings gefunden, daß man Milchzuckerhefen aus jedem Käse gewinnen kann, wenn man Spuren davon in leicht saurer Rohrzuckerbouillon züchtet. Zunächst entwickeln sich darin Milchsäurebakterien, später Hefen, die dann leicht auf festen Nährböden zu isolieren sind. Viele dieser Hefen gehören zur sogenannten *Torula*, d. h. bilden keine Sporen, fast alle zeichnen sich dadurch aus, daß sie außer Laktase keine anderen hydrolytischen Enzyme bilden, nur die Weigmannsche Art erzeugt auch Saccharase und Raffinase. Die den Hefen nahestehenden *Monilia variabilis* und *Sachsia suaveolens* vergären nach Lindner ebenfalls Milchzucker.

Die Schimmelpilze bilden wie die gewöhnlichen Hefen nur selten Laktase, doch gibt es einen, die *Eurotiosis Gayoni* (Laborde¹⁾), der Diastase, Dextrinase, Maltase, Trehalase, Laktase und außerdem noch glykosid- und eiweißspaltende Enzyme sowie Zymase produziert, wenn auch zum Teil nur in kleiner Menge. Nur die Saccharase fehlt in dem komplizierten Bilde, das wir uns von dem im Stoffwechsel benutzten Handwerkszeug dieses Pilzes machen müssen. Maltase und Laktase schließen sich daher gegenseitig nicht aus (vgl. E. Fischer²). Dafür könnte man auch die Tatsache anführen, daß es zahlreiche Bakterien, z. B. aus der Gruppe des *Bact. coli* und *Strept. lacticus* gibt, die Milchzucker und andere Disaccharide gleichzeitig angreifen (vgl. Milchsäure-, Butter-säure- und Schleimgärung). Hydrolytische Enzyme sind freilich bisher bei ihnen nur verhältnismäßig selten nachgewiesen worden, so z. B. bei dem *Streptococcus lacticus* b von Freudenreich³) und dem *Mikrokokkus Emmerlings*⁴), die im Kefyr und Mazun vorkommen, und die Milchzucker und Rohrzucker spalten und dadurch zur Gärung für die gewöhnliche Hefe vorbereiten. Vielleicht besteht eine ähnliche Symbiose zwischen milchzuckerspaltenden Bakterien und Hefen im ägyptischen „Leben“⁵). Wahrscheinlich würde eine umfassende Prüfung der Bakterien, namentlich mit Hilfe der Preßsaftmethode, bessere Ergebnisse liefern, d. h. ein häufigeres

1) Annal. Pasteur 1897. Die ebenso enzymreiche *Monilia sitophila* Wents (Jahrb. wiss. Bot. 36, 1901) bildet keine Laktase und auch keine Zymase, außerdem aber Zellulase und Raffinase.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 26.

3) Vgl. Anm. 4, S. 240.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 418.

5) Rist und Houry, Annal. Pasteur 1902. Die Reinkulturen der Bakterien besaßen allerdings keine spaltende Kraft für Milchzucker. in Mischung mit Hefe veranlaßten sie aber die alkoholische Gärung.

Vorkommen der hydrolytischen Enzyme etwa in Form von Endoenzymen (vgl. *Monilia candida*, S. 235) beweisen. In manchen Fällen haben wir aber den sicheren Beweis, daß die hydrolytischen Spaltungen überhaupt nicht ausgeführt, sondern die zusammengesetzten Zucker direkt vergoren werden (§ 98). Übrigens bestätigt sich auch bei den Bakterien die bei den Pilzen gemachte Beobachtung, daß Milchsucker seltener als die übrigen Disaccharide von ihnen angegriffen wird. Über die Beziehungen, die zwischen Laktase und glykosidspaltenden Fermenten bestehen, werden wir bei den letzteren berichten (§ 154).

Bemerkenswerterweise ist Laktase bisher das einzige zuckerspaltende Enzym, mit dessen Hilfe es gelingt, bei Tieren eine Antilaktase, d. h. einen die Laktasewirkung hemmenden Stoff im Blutserum zu erzeugen¹⁾.

§ 83. **Raffinase.** Ein Trisaccharid, das wegen seines Vorkommens in der Melasse der Zuckerfabriken eine größere Bedeutung hat und von vielen Hefepilzen (§ 86) zu Melibiose und Fruktose gespalten wird, ist die Melitriose oder Raf.inose. Wahrscheinlich beruht diese Umwandlung auf einem Enzym, der Raffinase. Es darf mit der Saccharase nicht zusammengeworfen werden, obwohl es gewöhnlich mit ihr vergesellschaftet ist, weil in einzelnen Fällen, so z. B. bei *Monilia candida*, das Vorkommen von Saccharase und das Fehlen von Raffinase festgestellt worden ist, und umgekehrt sich die Raffinase ohne die Saccharase findet (*Schizosaccharomyces octosporus*²⁾). Auch Pilze spalten vielfach Raffinose, so die enzymreiche *Monilia sitophila* W e n t s³⁾, möglicherweise — nach ihrem Gärungsvermögen zu urteilen — auch Bakterien (§ 100 u. 112).

§ 83a. **Zusammenfassung.** Mit den hier aufgeführten Vorgängen ist die Zahl der hydrolytischen Spaltungen der Zuckerarten jedenfalls noch nicht erschöpft. Es gibt seltenere Disaccharide, wie Turanose und Gentiobiose, und Trisaccharide wie Melezitose und Gentianose, die von Pilzen zum Verfall gebracht werden können⁴⁾. Vorläufig werden wir besondere Enzyme dafür verantwortlich zu machen haben.

1) Vgl. S c h ü t z e, Zeitschr. f. Hyg. 48. 3, 1904. Vgl. § 249.

2) E. F i s c h e r und L i n d n e r, Ber. chem. Ges. 28. 984, 1895. Vgl. L i n d n e r, Betriebskontrolle. S. 196. E. F i s c h e r und N i e g e l (Sitzungsber. Berl. Akad. 1896) konstatierten dasselbe Verhalten für den Darmsaft des Rindes.

3) Jahrb. wiss. Bot. 36, 1901, vgl. B o u r q u e l o t, Bull. soc. mycol. de France 1893.

4) B o u r q u e l o t, Compt. rend. soc. biol. 55, 1903.

Aus diesem Abschnitt (§ 69—83) können wir vielleicht den Schluß ziehen, daß hydrolytische Enzyme für Kohlenhydrate bei Pilzen, einschließlich der Hefen, sehr gewöhnlich nachzuweisen sind, für die Bakterien aber eine geringere Bedeutung haben. Nur die diastatischen Enzyme machen eine Ausnahme von dieser Regel.

§ 84. Spaltungsgärungen der Kohlehydrate. Alkoholgärung. Die hydrolytischen Vorgänge, die wir bisher kennen gelernt haben, bereiten die zusammengesetzten Kohlenhydrate vor zu tiefen Spaltungen, die am besten als „Spaltungsgärungen“ bezeichnet werden (§ 61), und zwar nach ihren hauptsächlichsten Produkten als alkoholische, Milchsäure-, Buttersäure- und Sumpfgasgärung. Doch werden wir im Laufe der Erörterung sehen, daß damit nicht alle Spaltungsgärungen erschöpft sind, daß wir daneben noch eine (anaërobe) Essigsäure-, Wasserstoff-, Ameisen-, Propionsäure-, Bernsteinsäure-, Glycerin-, Mannit- und Butylalkohol-Gärung zu unterscheiden haben. Die Benennung dieser Vorgänge ist keine ganz folgerichtige. Man spricht z. B. oft von einer *Zellulosegärung* und meint damit die *Vergärung der Zellulose* zu Sumpfgas oder Wasserstoff. Manchmal will man unter Gärung nur die tieferen Spaltungen verstehen, bei denen Gase entstehen.

Nur in einigen Fällen, wie bei der Alkohol- und Milchsäuregärung ist es gelungen, die Spaltung auf ein Enzym zurückzuführen, in den anderen wird es hoffentlich noch gelingen.

Die Geschichte der *Alkoholgärung* ist zugleich auch die Geschichte der Gärung überhaupt, weil sie bei weitem die größte Bedeutung für den Haushalt des Menschen hat und darum auch am meisten studiert worden ist. Die Entwicklung unserer Kenntnisse läßt sich in folgender Weise kurz zusammenfassen:

L a v o i s i e r (1789), G a y - L u s s a c (1815), D u m a s und B o u l l a y (1828) haben das Verdienst, die quantitativen Verhältnisse der Alkoholgärung, die zu der Gleichung



führten, aufgedeckt zu haben.

C a g n i a r d - L a t o u r (1836) und S c h w a n n (1837) bewiesen zuerst unabhängig voneinander, daß die Hefe als ein Wesen zu betrachten ist, das durch seinen Lebensprozeß die Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure vollzieht.

Aber erst P a s t e u r ¹⁾ (1860 ff) gelang es, dieser Auffassung in der wissenschaftlichen Welt zum Siege zu verhelfen und die Biologie

1) Mémoire sur la fermentation alcoolique. Annal. de chim. et phys., 3. série, 58. Bd. 1860. Études sur la bière. 1876.

und Chemie des Gärungsprozesses gründlich aufzuklären. Mit seinen Arbeiten muß man noch heute das Studium der Gärung beginnen. Ein weiterer Fortschritt erfolgte durch die Reinzucht der Hefen, die wir H a n s e n (§ 85) verdanken. Daß der Vergärung der Disaccharide, wenigstens der durch Hefen verursachten, stets ihre Hydrolyse durch besondere Enzyme vorausgeht, und daß die Gärfähigkeit der Monosaccharide von dem räumlichen Aufbau ihrer Moleküle abhängt, haben uns namentlich die Untersuchungen E. F i s c h e r s gelehrt¹⁾.

Den Schlußstein des Gebäudes setzte 1897 E. B u c h n e r ²⁾ ein durch Entdeckung des Enzyms der Alkoholgärung, der Zymase.

§ 85. **Erreger der Alkoholgärung.** Die alkoholerzeugenden Mikroorganismen sind in erster Linie die Hefen, deren Besonderheiten wir vor allen Dingen durch die Arbeiten E. Chr. H a n s e n s, der uns die R e i n z u c h t d e r H e f e lehrte, und seiner Schüler und Nachfolger³⁾ kennen. Es gehören dazu die eigentlichen (sporenbildenden) Hefen (*Saccharomyces* und *Schizosaccharomyces*) und viele nicht sporenbildende, unechte Hefen oder Sproßpilze wie *Torula*, *Monilia*, *Sachsia*, *Oidium* (aus der Gruppe der *Fungi imperfecti*), während die *Mycoderma*-Arten gewöhnlich keine alkoholische Gärung verursachen (vgl. die Klassifikation § 86). Aber auch Schimmelpilze gehören hierher, wenn sie auch bei weitem nicht so kräftig wirken wie Hefen. So ist lange bekannt, daß *Mucor*-Arten, insbesondere *Mucor racemosus*, alkoholische Gärung verursachen können⁴⁾. Man brachte die Gärung in Verbindung mit den sproßpilzähnlichen Verbänden, die sich dabei zeigen. Nach W e h m e r ⁵⁾ haben diese aber nichts mit der Gärung zu tun. Das wird schon dadurch bezeugt, daß auch andere Pilze, die nur ausnahmsweise Sproßverbände bilden (*M. javanicus*), Gärung erregen. Andere Gärungserreger sind *Mucor Rouxii* (*Amylomyces*⁶⁾), *alternans*⁷⁾, *cinelloides*, *spinosus*⁸⁾, *mucedo* und *erectus*⁹⁾. Etwas zweifelhaft

1) Ber. chem. Ges. von 1891—95, insbesondere 23. 2114 und 27. 3189. Zusammenfassende Darstellung: Zeitschr. physiol. Chem. 26.

2) Vgl. insbesondere das Werk von E. und H. B u c h n e r und M. H a h n: Die Zymasegärung. München 1903.

3) Compt. rend. trav. du laboratoire de Carlsberg. Kopenhagen 1879ff. Vgl. Klöcker: Gärungsorganismen, 1900; L i n d n e r: Mikroskop. Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben; und den 3. Bd. in L a f a r s Techn. Mykologie 1905—1907.

4) B r e f e l d, Landwirtsch. Jahrb. 1876.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 14. 556 und 15. 8, 1905.

6) C a l m e t t e, Annal. Pasteur 1892.

7) G a y o n und D u b o u r g, Annal. Pasteur 1887.

8) G a y o n, Ann. chim. phys. 5. série, 14, 1878.

9) H a n s e n, Compt. rend. trav. laborat. Carlsberg 1888.

ist das Gärvermögen von *Aspergillus* und *Penicillium*, das allerdings schon *Pasteur* beobachtet haben wollte. Dagegen ist die vielseitige *Eurotiosis* (*Allescheria*) *Gayoni*, die wir schon mehrfach erwähnt, auch hier anzuführen¹⁾.

Den Bakterien fehlt ebensowenig die Fähigkeit zur alkoholischen Gärung, doch ist sie stets nur in geringerem Grade ausgesprochen und von anderen Gärungen derartig verdeckt, daß der Alkoholnachweis nur bei genauester chemischer Untersuchung gelingt (vgl. § 104). Immerhin sprechen diese Funde dafür, daß die Alkoholgärung bei den Mikroorganismen weit verbreitet ist. Noch interessanter ist aber die Feststellung, daß sie auch bei den höheren Organismen, Pflanzen und Tieren beobachtet wird.

Ältere Literatur darüber findet sich bei *Döpping* und *Struve*, Journ. prakt. Chem. 41. 271, 1847. Einwandfreie Versuche wurden zuerst 1869 von *Lechartier* und *Bellamy* (Compt. rend. 69. 366 und 466; 75. 1204; 79. 949 und 1006) mit Äpfeln und Birnen gemacht, die sich bei Abschluß von Sauerstoff monatelang am Leben halten ließen. *Pasteur* (Compt. rend. 75. 1056 und Études sur la bière, S. 260) setzte einige Jahre später 24 frische Pflaumen unter eine Glocke, die er mit Kohlensäure füllte. Nach 8 Tagen waren die Pflaumen trocken und hart geworden und hatten viel von ihrem Zuckergehalt verloren, ihre Destillation ergab dagegen 6,5 g Alkohol, d. h. mehr als 1% ihres Gewichts. Andere Versuche von *Traube* (Ber. chem. Ges. 1874. 885), *Brefeld* (Landwirtsch. Jahrb. 1876) und *Müntz* (Ann. chim. phys. 5. série, 8, 1876) hatten bei zahlreichen Pflanzen ähnliche Resultate. *Brefeld* sah den Alkoholgehalt in Erbsenkeimlingen sogar 5% erreichen. Er betont übrigens die Bildung von Nebenprodukten, wie Säuren, Fuselöl und aromatischen Stoffen. Aufhebung der Lebensfähigkeit durch Erhitzung auf 48° und Erfrieren hebt auch die Alkoholbildung auf. *Röhmnn* (Zeitschr. phys. Chem. 5) und *Rajewski* (Pflügers Archiv 11) fanden ebenfalls Alkohol in Leber und Mastdarm normaler Tiere. Neuerdings — nach der Entdeckung der Zymase — sind diese Versuche von verschiedenen Autoren wieder aufgenommen worden. *Godlewsky* und *Polzeniusz* (Compt. rend. acad. sc. Cracovie 1901. 227) kamen dabei zu dem Resultat, daß die intramolekulare Atmung der Samenkörner, was die quantitative Produktion von Alkohol und Kohlensäure anbetrifft, einer echten alkoholischen Gärung entspricht. Für *Mazé* (Annal. Pasteur 1900 und 1902) ist der Alkohol auch unter den gewöhnlichen Verhältnissen des Lebens an der Luft eins der wichtigsten Zwischenprodukte des Stoffwechsels. Erbsen eignen sich am besten zum Studium der vegetabilischen Alkoholgärung. Sehr umfangreich sind die Arbeiten *Stoklasa*s auf diesem Gebiete. *Stoklasa* und *Czerny* (Ber. chem. Ges. 36. 622 und Hofmeisters Beitr. 3. 11) erhielten nach dem *Buchner-Alberts*chen Verfahren (§ 89) aus Rüben, Erbsen und Kartoffeln, die sie 5—10 Tage bei Sauerstoffabschluß hielten, ferner aus frischen Erbsenpflänzchen und Zuckerrübenwurzeln,

1) *Laborde*, Ann. Pasteur 1897; *Mazé*, Annal. Pasteur 1904.

ebenso aus Blättern und Blüten, aber auch aus frischen oder anaërob aufbewahrtem Fleisch, Lunge, Leber und anderen Organen von Schlachtieren ein trockenes Pulver, das, in Zuckerlösung gebracht, diese s o f o r t in mehr oder weniger stürmische Gärung versetzte. Das Verhältnis der dabei entwickelten Kohlensäure- und Alkoholmenge entsprach ziemlich genau demjenigen, das bei der alkoholischen Gärung gefunden wird (100 : 104,5), nur wurde gewöhnlich etwas zuviel Alkohol bestimmt. Dabei wurde strengste Vorsorge getroffen, daß keine Verunreinigung durch Mikroorganismen auftrat. Wo eine solche dennoch stattgefunden hatte, konnten die Autoren feststellen, daß die Mikroorganismen nicht an der Gärung schuld waren. Die Menge der von 10 g Rindslungenenzym in 100 ccm 15 prozentiger Glykoselösung gebildeter Produkte betrug in einem Versuche binnen 52 Stunden 3,088 g Kohlensäure und 3,201 g Alkohol. Von der Kohlensäure war mehr als der dritte Teil schon in den 12 ersten Stunden entwickelt. Die wesentliche Identität der intramolekularen Atmung (§ 62) mit der alkoholischen Gärung scheint dadurch allerdings sehr wahrscheinlich gemacht (vgl. auch § 101).

§ 86. Verhalten der zusammengesetzten Kohlehydrate zur Alkoholgärung. Einteilung der Hefen. Wie oben (S. 245) bemerkt, vergären die Hefepilze diejenigen Poly- und Disaccharide, für die sie hydrolytische Enzyme besitzen. Da diese in den verschiedensten Mischungen vorkommen, so ergibt sich daraus eine freilich nicht gerade „natürliche“ Klassifikation der Hefepilze nach ihrem Gärvermögen.

Man kann unterscheiden (nach Hansen, Lindner u. a. von mir zusammengestellt¹⁾):

- I. Gruppe des *Sacch. cerevisiae*, d. h. Hefen, die Maltose, Saccharose, Raffinose, Dextrose und Fruktose, nicht Laktose vergären. Der *Sacch. cerevisiae* zerfällt wieder in folgende Abarten:
 - a) var. Logos (van Laer) vergärt Dextrin vollständig und Inulin, ebenso Melibiose;
 - b) var. Unterhefe I (Frohberg) vergärt einige Dextrine und Melibiose;
 - c) var. Unterhefe II (Saaz), vergärt Dextrin nicht, aber Melibiose;
 - d) var. Oberhefe I (Frohberg) vergärt Dextrin, nicht Melibiose;
 - e) var. Oberhefe II (Saaz) vergärt weder Dextrin noch Melibiose.

1) Zur Prüfung des Gärungsvermögens eignet sich am besten die von Lindner angegebene Methode, nach der die Hefeaufschwemmung (in Wasser oder Hefewasser) in die Höhlung eines ausgeschliffenen Objektträgers gebracht, mit einer Platinöse Zucker vermischt, unter Vermeidung von Luftblasen mit Deckglas überdeckt und nun mit Vaseline umrandet bei 25° stehen gelassen wird. Wenn Gärung erfolgt, treten Kohlensäureblasen auf.

Der *Sacch. ellipsoideus* (Weinhefe) läßt sich ähnlich einteilen wie Unterhefe, vergärt aber Melibiose nicht. Weitere Unterscheidungsmerkmale gibt das Verhalten zu Trehalose.

Das Gleiche gilt für den *Sacch. pastorianus* (wilde Krankheitshefen). Hierher gehören ferner der *Sacch. anomalus*, *S. (Torula) novae Carlsbergiensis* und *S. cartilagineus* (Lindner). Der *Schizosaccharomyces Pombe* vergärt außer den obigen Zuckerarten Dextrin und Inulin, nicht Mannose und Galaktose, der *Sch. mellacei* auch Mannose (Lindner s. u. S. 258).

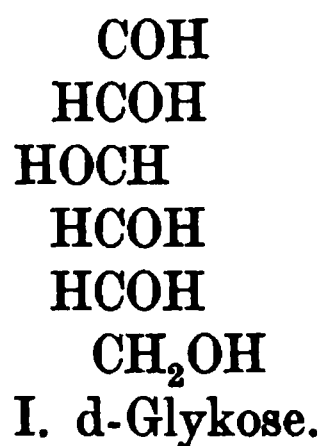
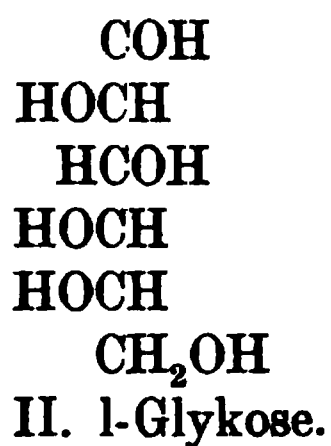
- II. Gruppe der *Monilia candida* vergärt Maltose, Saccharose, Dextrose und Fruktose, nicht Raffinose und Laktose.
- III. Gruppe des *S. Marxianus* vergärt Saccharose, Raffinose, Dextrose und Fruktose, nicht Maltose und Laktose. *S. Marxianus* vergärt Inulin, nicht Dextrin; *S. exiguus* Dextrin, nicht Inulin; *S. Ludwigii* weder Dextrin noch Inulin. Hierher scheint auch der bekannte *Sacch. guttulatus* des Kaninchendarms zu gehören¹⁾.
- IV. Gruppe des *S. albicans* vergärt Maltose, Dextrose und Fruktose, nicht Saccharose und Laktose. *S. albicans* (Soor). Der *Schizosaccharomyces octosporus* vergärt außer der Saccharose, Laktose, und dem Inulin alle Zuckerarten, auch sämtliche Hexosen (Lindner s. u. § 89).
- V. Gruppe des *S. apiculatus* vergärt Dextrose und Fruktose, nicht Maltose, Saccharose, Raffinose und Laktose, *S. apiculatus*, *Delbrückii*, *Bailii*, *farinosus*, *anomalus belgicus*, *S. (Mycoderma) glycomyces Beijerinck* (von B. Fischer und Brebeck 1894 als *Endoblastoderma* bezeichnet).
- VI. Gruppe der Milchwurmerhefen vergärt Laktose (vgl. § 82). Sie verhalten sich im übrigen verschieden zu den anderen Zuckerarten, zum Teil wie Gruppe I und II.
- VII. Gruppe der Zuckernichtvergärenden Kahlhefen (*Mycoderma*-, *Endoblastoderma*-), *Torula*- und *Oidium*-Arten. Hierher gehören nach Buschke²⁾ auch die pathogenen Oidien Gilchrichts, nach Sternberg³⁾ die pathogenen Hefen (*Sacch. hominis* Busse u. a.). Indessen besitzen sie nach anderen Angaben (Sternberg: Oidien, Buschke: Hefen) doch ein schwaches Gärvermögen.

1) Casagrandi und Buscalioni (Annali d'igiene 1898).
Wilhelmi (Zentr. Bakt. 2. Abt. 4).

2) Blastomykose in Bibl. medic. Stuttgart 1902.

3) Zieglers Beiträge 32.

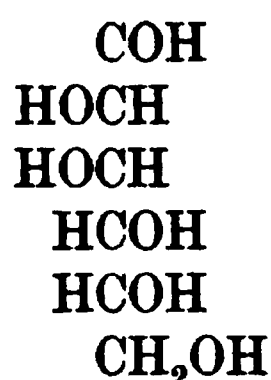
§ 87. Beziehungen der Vergärbarkeit zum Bau der Monosaccharide. Nachdem wir in früheren Abschnitten die hydrolytische Spaltung der Kohlenhydrate durch Hefen erörtert, interessiert uns hier noch das verschiedene Verhalten der Hefe gegenüber den Produkten der Hydrolyse. Direkt gärfähig sind überhaupt nur die Hexosen von der Formel $C_6H_{12}O_6$, aber auch diese nicht sämtlich, sondern nur drei von allen Aldohexosen, nämlich die d-Glykose (Traubenzucker, Dextrose), die d-Mannose und die d-Galaktose, sowie nur eine Ketohexose, nämlich die d-Fruktose (Fruchtzucker, Lä vulose¹⁾). Das ist wieder ein Beispiel für die ausschlaggebende Bedeutung, welche die Konfiguration des Moleküls für die Angreifbarkeit desselben durch die Mikroorganismen besitzt. Ebenso wie manche Schimmelpilze nur oder wenigstens in erster Linie die Rechtsweinsäure zersetzen können (§ 58), spalten die Hefen nur die d-Hexosen, nicht ihre optischen Antipoden, die l-Verbindungen; aber auch jede andere Veränderung in der Stellung der Atome hebt die Gärfähigkeit auf oder beeinträchtigt sie wenigstens um so mehr, je größer die Veränderung, die das Molekül dadurch in seiner Konfiguration gegenüber der d-Glykose erleidet. Klarer wird das wenn wir uns nach E. Fischer²⁾ die Konfigurationsformeln der Hexosen vergegenwärtigen:



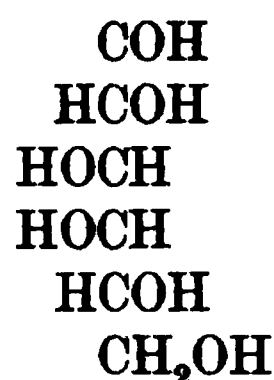
Hier ist die Verbindung links, das Spiegelbild von der d-Glykose, unvergärbar, während die letztere unter allen Zuckern am besten vergoren wird. Wird jetzt das Wasserstoffatom und das Hydroxyl an dem ersten asymmetrischen Kohlenstoffatom der d-Glykose vertauscht, so entsteht die leicht, aber immerhin schwerer als die Glykose vergärbare d-Mannose. Auch der Umtausch der an das dritte asymmetrische Kohlenstoffatom geketteten

1) Vgl. E. Fischer und Thierfelder, Ber. chem. Ges. 27. 2036 und Lindner, Wochenschr. Brauerei 1900, auch S. 196 und 197 der Mikr. Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben 1901. S. u. auch die Übersicht S. 258.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 26.

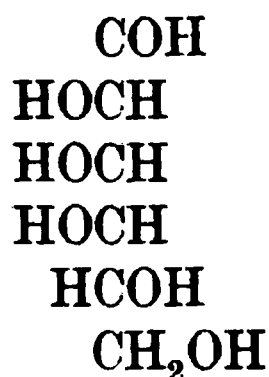


III. d-Mannose.

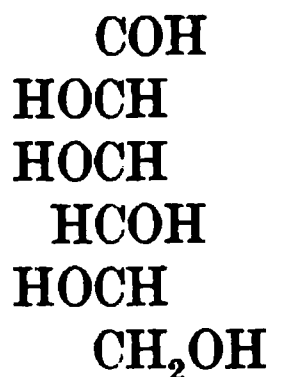


IV. d-Galaktose.

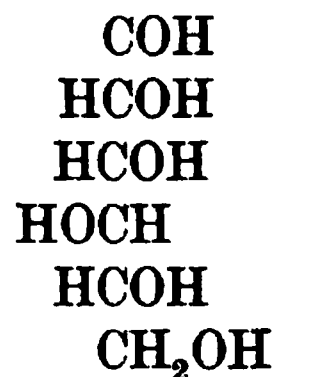
Atome gibt noch einen Zucker, die Galaktose, der gewöhnlich vergoren wird, allerdings nicht so kräftig, wie die bisher genannten. Findet die Umstellung aber am ersten u n d dritten oder am ersten u n d vierten oder am zweiten u n d dritten Kohlenstoffatom statt, so entstehen die drei gärungsunfähigen Hexosen d-Talose, d-Gulose und l-Gulose.



V. d-Talose

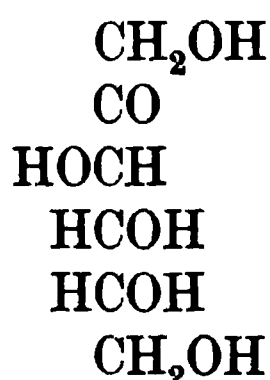


VI. d-Gulose

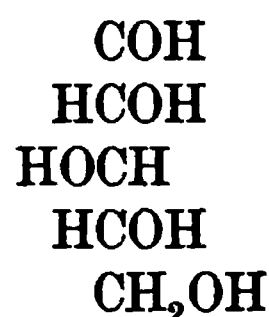


VII. l-Gulose

Die d-Fruktose, die einzige Ketohexose, die vergoren wird, und zwar im allgemeinen ebenso leicht als die d-Glykose, hat folgende abweichende Konfiguration, deren sonst möglichst hohe Ähnlichkeit mit der letzteren aber ins Auge springt.



VIII. d-Fruktose.



IX. Xylose.

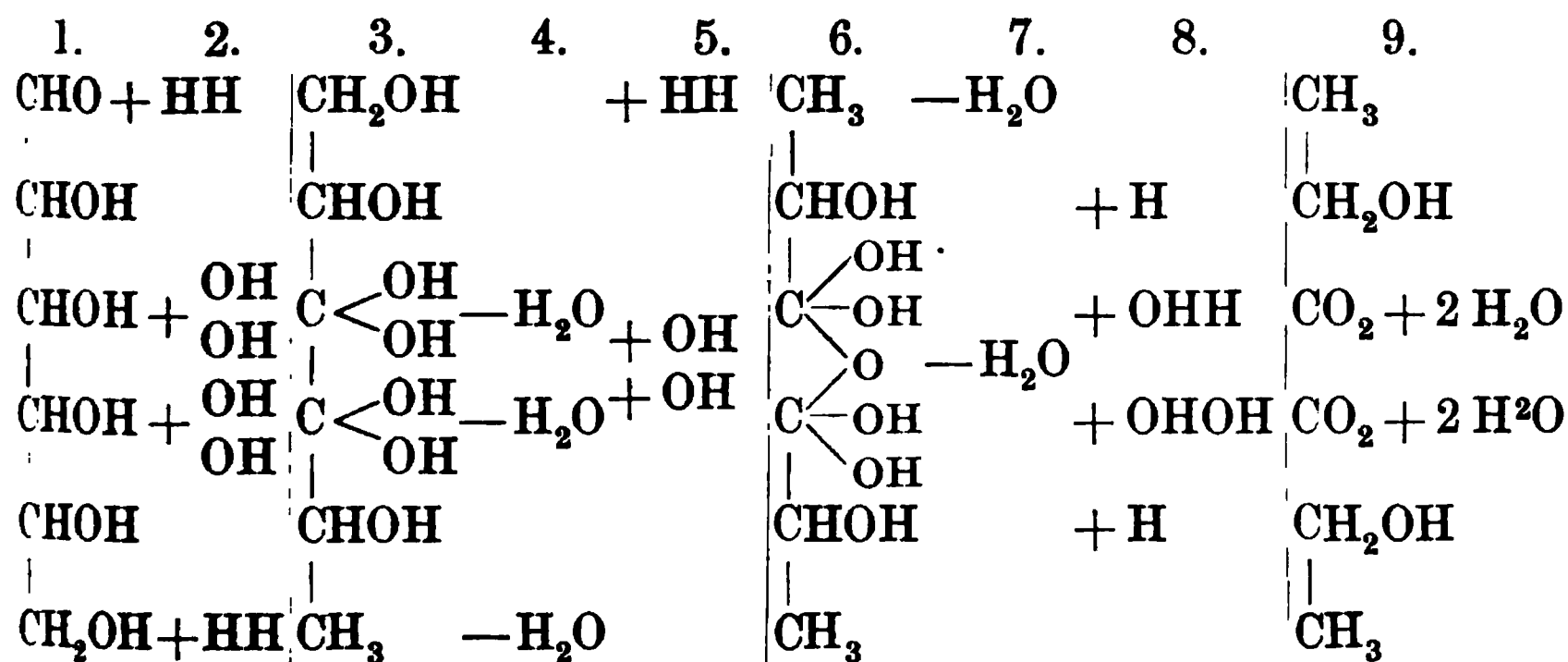
Von den Ketosen ist sonst noch die l-Fruktose, Tagatose und die Sorbose mit negativem Erfolge geprüft worden.

Pentosen (Xylose, Arabinose, Rhamnose), Heptosen (α-Glykoheptose), Oktosen (α-Glykooktose) sind nicht gärfähig, wohl einzelne Nonosen (Mannononose). Ob die Triose (Glyzerose) vergoren wird, ist zweifelhaft (Emmerling, Ber. chem. Ges. 32. 342). Figur IX zeigt die Konfiguration der Xylose und ihre sonst vollständige Ähnlichkeit mit der d-Glykose. Das Fehlen des vierten asymmetrischen Kohlenstoffs reicht aber hin, um diesen Zucker gegen den Angriff der Hefe zu schützen.

§ 88. Theorie der alkoholischen Zuckerspaltung. Aus den im vorstehenden aufgeführten Tatsachen haben E. F i s c h e r und

Thierfelder ebenso wie aus ihren Untersuchungen über die hydrolytischen Spaltungen der Glykoside (vgl. § 154) den Schluß gezogen, daß zwischen den Enzymen und ihren Angriffsobjekten eine Ähnlichkeit der molekularen Konfiguration bestehen müsse, wenn Reaktion erfolgen solle. Fischer¹⁾ verglich die Anpassung des Enzyms an die zu verwandelnde Substanz mit derjenigen, die zwischen Schlüssel und Schloß besteht. Es ist das freilich nur ein Bild, aber ein so anschauliches, wie wir es uns bei diesen dunklen Verhältnissen nur wünschen können.

Mit dieser Hypothese ist natürlich über die Art der Spaltung des Zuckermoleküls zu Alkohol und Kohlensäure noch nichts gesagt. Weil Zwischenprodukte bei diesen Reaktionen bis vor kurzem nicht bekannt waren, sie auch auf andere Weise als durch Fermentwirkung nicht hervorgerufen werden konnten, so war man auf Vermutungen angewiesen. Da Zahl und Beschaffenheit der Atome nach der Reaktion dieselbe wie vorher ist, so könnte man sich vorstellen, daß sie zustande käme durch eine Verschiebung der Atome innerhalb des Zuckermoleküls, eine Verschiebung, wobei einerseits durch Bindung von zwei Dritteln der Sauerstoffatome an ein Drittel der Kohlenstoffatome eine Oxydation und andererseits durch Bindung fast sämtlicher Wasserstoffatome an den übrigen Kohlenstoff eine Reduktion einträte. Es ist aber kaum anzunehmen, daß der Prozeß als einfache Atomverschiebung verläuft. Vielmehr hat A. d. B. a e y e r²⁾ schon 1870 durch analoge Reaktionen die Hypothese begründet, daß die Atomverschiebung vermittelt werde durch abwechselnden Aus- und Eintritt von Wassermolekülen. Indem wir auf die nähere Begründung durch B a e y e r verweisen, geben wir hier die dabei sich etwa abspielenden Vorgänge in einer von E. B u c h n e r etwas veränderten Form wieder.

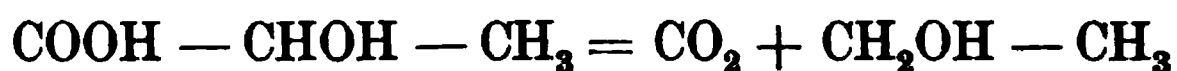


1) Ber. chem. Ges. 1894. 2992.

2) Ebenda 1870. 63.

Aus dem Molekül des Traubenzuckers (1) bildet sich durch Eintritt von 4 Wassermolekülen (2) die Zwischenverbindung (3) unter Austritt von 3 Wassermolekülen (4). Zwei H_2O (5) treten an anderer Stelle wieder ein und bilden das Vorprodukt der eigentlichen Spaltung (6), das eine Art vom Anhydrid der Milchsäure ist unter Wiederaustritt von zwei H_2O (7). Treten jetzt drei Wassermoleküle dazu (8), so zerfällt das Ganze in (9) 2 Moleküle Alkohol, 2 Moleküle Kohlensäure und 4 Wassermoleküle. Durch die Anhäufung des Sauerstoffs in der Mitte des Moleküls (6) wird eine Sprengung an dieser Stelle begünstigt.

Einen ähnlichen Gedankengang verfolgte N e n c k i ¹⁾, ließ aber den Alkohol unmittelbar durch Abspaltung von Kohlensäure aus Milchsäure hervorgehen,



die ihrerseits aus dem Zucker auf dem Umwege über das Dioxypropionaldehyd $\text{CHO} - \text{CHOH} - \text{CH}_2\text{OH}$ durch Ein- und Austritt von Wasser sich bilden soll.

Neuere Untersuchungen haben ergeben (s. u. § 90), daß bei der z e l l f r e i e n Gärung Milchsäure wirklich neben Alkohol und Kohlensäure in wechselnden Mengen auftritt und wieder verschwindet. B u c h n e r und M e i s e n h e i m e r ²⁾ folgern daraus, daß dieser Stoff ein Zwischenerzeugnis der Gärung sei und schließen sich zuletzt der von W o h l und N e f ³⁾ näher begründeten Ansicht an, daß Methylglyoxal $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{COH}$, nicht die Dioxy- γ -Ketonsäure $\text{COOH} - \text{CHOH} - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{CHOH} - \text{CH}_3$, wie sie es zuerst annahmen, als das erste Umwandlungsprodukt der Glykose bei der Gärung zu betrachten sei, obwohl sie diesen letzteren Stoff mit Dauerhefe nicht spalten konnten. Den ersten Teil der Gärung, die Milchsäureentwicklung, führen sie jetzt auf ein besonderes Enzym, das sie wieder „Hefe-Zymase“ nennen, die Spaltung der Milchsäure auf die „Laktazidase“ zurück. Abgesehen von der Milchsäure, die noch dazu bei der Gärung durch l e b e n d e Hefe auch fehlt, ist aber keins der übrigen Zwischenprodukte bisher nachgewiesen worden. Es bleibt auch die Möglichkeit bestehen, daß die Milchsäure ihre Entstehung der Wirksamkeit eines anderen Endoenzyms verdankte und, wie bei der Milchsäuregärung durch Bakterien, gar nichts mit der Alkoholbildung zu tun hätte (§ 99 und 104). Immerhin bliebe dann das auch nach künstlichem Zusatz von Milchsäure zum Preßsaft manchmal beobachtete Verschwinden

1) Journ. prakt. Chem. 17. 105, 1883.

2) Ber. chem. Ges. 1904. 417 und 1905. 620; 1906. 3201.

3) Annal. der Chem. und Pharm. 335. 254 und 279, 1904.

der Milchsäure¹⁾ zu erklären. Weitere Untersuchungen, die auch auf die Preßsäfte anderer Hefepilze (§ 89) auszudehnen wären, sind natürlich sehr wünschenswert.

Auch auf rein chemisch-physikalischem Wege ist mehrfach die Entstehung von Milchsäure und Alkohol aus Zucker nachgewiesen worden. Zunächst fanden N e n c k i ²⁾ und S i e b e r, daß allerdings bei etwas erhöhter Temperatur (35—40°) Traubenzucker mit 0,3 prozentiger Kalilauge nach 10 Tagen, mit 1 prozentiger Kalilauge nach 6 Tagen unter Milchsäurebildung verschwindet; dann stellte D u c l a u x ³⁾ fest, daß Glykose im Sonnenlicht in Gegenwart von Kalilauge in Alkohol und Kohlensäure, bei Gegenwart von Barytwasser in Milchsäure gespalten wird, während milchsaurer Kalk in wäßriger Lösung ebenfalls im Sonnenlicht zu Alkohol, Kalziumkarbonat und Azetat zerfällt. B u c h n e r und M e i s e n h e i m e r sahen Glykose in 5 prozentiger Kalilauge selbst im Dunkeln und bei gewöhnlicher Temperatur nach 11 Monaten unter reichlicher Bildung von Milchsäure vollständig verschwinden, und stellten aus Kalziumlaktat, das mit Kalziumhydroxyd erhitzt war, größere Mengen Äthylalkohol und Isopropylalkohol dar.

Eine andere Art von katalytischer Umwandlung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure hat S c h a d e ⁴⁾ angegeben. Danach soll Zucker mit Kalilauge unter Luftdurchsaugung in Azetaldehyd und Ameisensäure



zerfallen und beide Körper zusammen durch Rhodiummohr Alkohol und Kohlensäure ergeben, indem die Ameisensäure in Kohlensäure und Wasserstoff zerspalten werde und der entstehende Wasserstoff das Azetaldehyd zu Alkohol reduziere. Der erste Teil des Prozesses wird aber von B u c h n e r und M e i s e n h e i m e r ⁵⁾ in Abrede gestellt und die Entstehung der Ameisensäure durch Oxydation aus Formaldehyd erklärt, der sich auf dem Umwege über das Glyzerinaldehyd unter dem Einfluß des Alkalis bilde.

§ 89. Zymase. L ü d e r s d o r f f ⁶⁾ hatte schon 1846 in der ausgesprochenen Absicht, zwischen der Liebig'schen Gärungstheorie und der vitalistischen Anschauung zu entscheiden, Hefezellen auf einer matt geschliffenen Glasplatte mit Hilfe eines gläsernen Läufers vollständig zerrieben, bekam aber bei der Prüfung dieses Breies mit Traubenzucker nicht ein einziges Gasbläschen. v. M a n a s s e i n ⁷⁾ sah zwar bei einer Nachprüfung dieses Experimentes Gärung eintreten, gleichzeitig aber auch Sprossung erhaltengebliebener Hefezellen. Das

1) Vgl. übrigens dazu S l a t o r, Ber. chem. Ges. 1907. 123.

2) Journ. prakt. Chem. 24. 501, 1881.

3) Vgl. Annal. Pasteur 1893. 751 und 1896. 168.

4) Zeitschr. physik. Chem. 57, 1906 und Nachtrag 1907; Münch. med. Woch. 1907. 38.

5) Ber. chem. Gesellsch. 1906. 4217.

6) Pogg. Annal. 67. 408.

7) Bei W i e s n e r, Mikroskopische Untersuchungen, Stuttgart 1872, S. 126.

Ergebnis war also nicht einwandfrei, führte aber die Verfasserin doch zu der ausgesprochenen Überzeugung, daß das Leben der Hefe zur Gärung nicht nötig sei. Andere Forscher, wie Ad. Mayer¹⁾, Amthor²⁾, E. Fischer und Lindner³⁾, Cremer⁴⁾ arbeiteten zwar auch mit zerriebenen Hefezellen, aber nur, um hydrolytische Enzyme daraus darzustellen. Man muß daher zugeben, daß nur von sehr wenigen Gelehrten auch nur der ernstliche Versuch gemacht worden ist, die Anwendbarkeit der Enzymtheorie auf die Alkoholgärung zu prüfen. In dem Grade stand man unter dem Banne der vitalistischen Theorie. An Forschern, welche an der alten Liebig-Traubeschen Auffassung mehr oder weniger festhielten, fehlte es trotzdem nicht (Hoppe-Seyler⁵⁾, Löw⁶⁾, E. Fischer⁷⁾, Will⁸⁾, Lafar⁹⁾. Will beobachtete sogar eine kräftige Gärwirkung von Hefe, die 9 Jahre lang gelagert hatte und kaum noch lebende Zellen enthielt. So ist es fast ein Wunder, daß die Entdeckung der Zymase solange hat auf sich warten lassen. Das schmälert natürlich das Verdienst E. Buchners¹⁰⁾ in keiner Weise. Seine Versuche, die 1893 begannen, führten ihn und seinen Mitarbeiter M. Hahn 1897 zu dem Ergebnis, daß es gelingt, frische, unter 50 Atmosphären trocken abgepreßte Bierhefe (1 kg) mit feinem Quarzsand (1 kg) und Kieselguhr (0,2—0,3 kg) in einer gewöhnlichen Reibeschale so zu zerreiben, daß die Zellen zum größten Teil zerstört werden, und dann aus diesem in ein Tuch eingeschlagenen Gemisch unter einer hydraulischen Handpresse bei 400—500 Atmosphären Druck einen Saft (300—500 ccm) auszupressen, der erhebliche Gärkraft besitzt. So wurden z. B. aus 20 ccm Saft, der mit 8 g Rohrzucker und 0,2 ccm Toluol versetzt war, bei 22° C in 24 Stunden 0,23—1,32, in 3 Tagen 0,48—1,87 g Kohlensäure entwickelt. Letztere Zahl entspricht etwa 1 Liter Kohlensäure. Guter Preßsaft liefert mit dem dritten Teil einer 60 prozentigen Rohrzuckerlösung vermischt bei 28° in 1 Stunde das 1½—2½ fache seines Volumens an Kohlensäure. Die Gasentwicklung beginnt also sofort und fällt deutlich in die Augen. Wenn

1) Lehre von den chemischen Fermenten 1882.

2) Zeitschr. angewandt. Chemie 1892. 319.

3) Ber. chem. Ges. 27. 3479 und 28. 3037.

4) Zeitschr. f. Biol. 31. 188.

5) Pflügers Arch. 12. 9.

6) Journ. prakt. Chem. N. F. 33. 351.

7) Ber. chem. Ges. 27. 2993.

8) Zeitschr. f. Brauwesen 1896. 20.

9) Techn. Mykol. 1897. 21.

10) Ber. chem. Ges. 30—32, vgl. auch Buchner und Hahn, die „Zymasegärung“ 1903.

dieses Ergebnis für jeden, der die Hefegärung kennt, schon keinen Zweifel darüber läßt, daß es nicht die lebende Hefe ist, die im Preßsaft wirkt, so beweisen dasselbe mikroskopische Untersuchung und Kulturversuche. Z. B. waren in 20 ccm Saft nach 3 Tagen nur 1420 Bakterien und 80 Hefezellen anwesend, eine Zahl, die gegenüber der zersetzten Zuckermenge überhaupt nicht in Betracht kommt. Selbst bei Zusatz frischer Hefezellen zu altem, gezuckertem Preßsaft ist die Gärung eine ganz unbedeutende, der Saft wirkt also geradezu *e n t w i c k - l u n g s - u n d g ä r u n g s h e m m e n d* auf lebende Zellen (vgl. Geret¹⁾ und Rapp²⁾). Filtrieren des Saftes durch Bakterienfilter verursacht eine starke Abnahme seines Gärvermögens, wie nach anderen Erfahrungen zu erwarten war, immerhin blieb es bei Benutzung von Kieselgurfiltern noch energisch genug. Einengen des Saftes bei 22—35° und völliges Einkochen unter der Luftpumpe vermindert dagegen seine Gärkraft nur unbedeutend. Das Trockenpräparat läßt sich auch monatelang aufbewahren und sogar stundenlang auf 85° erhitzen, während der Preßsaft selbst schon nach kurzer Zeit, wahrscheinlich unter dem Einfluß eines gleichzeitig vorhandenen tryptischen Fermentes (s. Endotryptase, § 166), seine Wirkung verliert. Durch Ausfrierenlassen kann man den Preßsaft konzentrieren (Ahrens) und durch Fällen mit Alkohol, Äther oder Azeton die wirksame Substanz ziemlich ungeschmälert gewinnen; sie ist in Wasser nur schwer, gut in verdünntem Glyzerin löslich. Wie vergleichende Versuche mit Fällungen durch viel oder wenig Alkohol ergaben, kann der Anteil des Enzyms an der gefällten Substanz nur ein ganz unbedeutender sein, denn der Niederschlag wog in beiden Fällen gleich schwer, während seine Gärkraft sehr verschieden war. Am günstigsten erweist sich die zehnfache Menge des Fällungsmittels. Das niedergeschlagene trockene Enzym wird entgegen anderen ähnlich dargestellten Enzymen schon durch Temperaturen von 105—110° zerstört.

Gewöhnlich bedeutend größer als die Gärkraft des Hefepreßsaftes ist die vorsichtig abgetöteter Hefezellen, der sogenannten *D a u e r - h e f e* (Zymin), die durch sorgfältiges Trocknen an der Luft und sechsständiges nachfolgendes Erhitzen bei 100° (E. Buchner) oder durch Einwirkung von Alkohol-Äther (R. Albert³⁾) oder Azeton (Albert, Buchner und Rapp⁴⁾) auf trocken abgepreßte Hefe erhalten wird. Die Chemikalien dürfen nur 5—15 Minuten mit der Hefe in

1) Münch. med. Woch. 1901. 46.

2) Ebenda 1902. 36.

3) Ber. chem. Ges. 33. 3775.

4) Ebenda 35. 2375.

Berührung bleiben. Im Durchschnitt bringt die Dauerhefe gleiche Teile Zucker zur alkoholischen Gärung. Aus diesem Präparat läßt sich durch Zerreibung und Auspressen wieder ein gärtüchtiger Preßsaft gewinnen, es wirkt aber auch unzerkleinert. Seiner Haltbarkeit wegen wird es fabrikmäßig dargestellt (Schröder - München).

Da das Azetonverfahren auch sonst für die Darstellung von Enzymen Anwendung finden kann, soll es hier genau angegeben werden. 500 g ausgewaschene und trocken abgepreßte frische Bierhefe wird mit 3 Litern Azeton 10—15 Minuten lang verrieben, das Azeton dann abgegossen, durch Filtrierpapier möglichst vollständig abgesogen, durch 1 Liter frisches Azeton ersetzt, dies nach 2 Minuten abermals entfernt, die Masse 3 Minuten lang mit 250 ccm Äther verrieben, der Äther abfiltriert, der Rückstand auf Filtrierpapier ausgebreitet und 24 Stunden bei 45° getrocknet. Man erhält so etwa 30% des ursprünglichen Hefegewichts. 4 g dieser Azetonhefe geben mit 2 g Rohrzucker in 10 ccm Wasser und 0,2 g Toluol binnen 72 Stunden 1 g Kohlensäure. Die Gasentwicklung beginnt früher als bei dem Alkohol-Ätherpräparat und ist auch kräftiger.

Von selbst abgestorbene Hefe soll dagegen unfähig sein, Gärung zu erregen.

Um wirksame Zymase zu gewinnen, ist es nötig, die Hefe möglichst frisch zu verarbeiten, doch schadet eintägiges Lagern unter Eiswasser nicht. Wird gut gewaschene und trocken abgepreßte Hefe 3—20 Stunden bei 0° an der Luft stehengelassen, so erhält man sogar eine Steigerung des Gärungsvermögens in der daraus hergestellten Dauerhefe.

Die Zymase der gewöhnlichen Bierhefe vergärt nach Buchner wie lebende Hefe die Glykose und Fruktose gleichgut, die Galaktose viel schlechter, über Mannose fehlt eine Angabe. Arabinose wird nicht angegriffen.

Außer der Zymase enthält der Hefepreßsaft (und die Dauerhefe), wie von vornherein zu erwarten, auch noch die übrigen Enzyme der Hefe. Nachgewiesen wurden die Wirkungen der Invertase, Maltase, Raffinase, Melibiase, Glykogenase, das Vermögen Milch- und Essigsäure zu bilden (§ 90), ferner tryptische Fermente, die Endotryptase, Nuklease, Arginase (§ 166), Emulsin (§ 154), Lipase (§ 138), oxydierende (§ 159 u. 222), reduzierende (§ 161 u. 211), und schließlich noch synthetische Enzyme (§ 90). Das spezifische Gewicht des Preßsaftes beträgt 1,027—1,050, sein Trockenrückstand 8,5—14,0%, sein Stickstoffgehalt 0,74—1,75%.

E. Buchner hat mit Meisenheimer¹⁾ auch den Preßsaft einiger anderer Hefearten untersucht. Derjenige der *Monilia candida* zeigte nur schwache Gärkraft, wie die lebende Zelle ja auch; er invertierte Rohrzucker energisch, was sich nach dem vorangegangenen Versuch E. Fischers erwarten ließ (S. 235). Der Preßsaft einer Milchwasserhefe aus armenischem „Mazun“ vergor Glykose und Laktose, Saccharose kaum (§ 82). Mazé²⁾ hat die Zymase der *Eurotiosis Gayoni*, Kostytschew aus anderen Pilzen (§ 222) Azetonpräparate dargestellt. Entsprechend der schwachen Gärkraft der *Eurotiosis* wirkte auch das Enzym viel schwächer, vertrug auch die Erhitzung auf 100° im Azetonpräparat schlecht. Schwächer als der Preßsaft aus Unterhefe wirkt nach Macfadyen, Morris und Rowland³⁾ und Harden und Young⁴⁾ auch der aus Oberhefe dargestellte. Im übrigen bestätigt namentlich die letztgenannte Arbeit, wie die verschiedener anderer Forscher⁵⁾ die Angaben E. Buchners vollständig. Warschawsky⁶⁾ fand, daß *Sacch. cerevisiae* I und *S. Pombe* ebenfalls Zymase bilden, jedoch nur auf Nährböden, die gärfähiges Material enthalten und eine gute Entwicklung gestatten. In dem *Sacch. membranaefaciens*, der Zucker nicht vergärt, fand sich auch keine Zymase.

Bisher hat sich das Alkoholferment noch nicht von den übrigen Enzymen trennen lassen⁷⁾, geschweige denn, daß es gelungen wäre, die beiden neuerdings von Buchner in dem Preßsaft angenommenen Teilenzyme der alkoholischen Gärung, die Zymase im engeren Sinne und die Laktazidase (§ 88 u. 90) voneinander zu scheiden. Dagegen ist es möglich, durch die Filtration oder Dialyse wenigstens einen anderen für die Gärung wichtigen Stoff, ein Koenzym („Koferment“) von der Zymase zu trennen. Harden und Young⁸⁾ beobachteten nämlich, daß gekochter und filtrierter Preßsaft, zu ungekochtem zugesetzt, dessen Gärwirkung verstärkte und fanden dann weiter, daß Filtration durch ein mit Gelatine getränktes Filter den Preßsaft in zwei

1) Zeitschr. physiol. Chemie 40, 1903.

2) Annal. Pasteur 1904. 284.

3) Ber. chem. Ges. 1900. 2764.

4) Ebenda 1904. 1052.

5) Will, Zeitschr. f. Brauwesen 1898. 291; Delbrück, Woch. Brauerei 1897. 363; Green, Annal. of bot. 1898; Wroblewski, Zentr. Physiol. 1898. 697; Ahrens, Zeitschr. angew. Chem. 14, 1900; Stavenhagen, Ber. chem. Ges. 1897. 2422 und 2963.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 400, 1904.

7) Buchner und Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 1905; Buchner und Hofmann, Biochem. Zeitschr. 4, 1907.

8) ref. Journ. of physiol. 32 I und Bull. Pasteur 1905. 430.

Teile trennte, die allein den Zucker nicht vergären, wohl aber miteinander gemischt. E. B u c h n e r und K l a t t e¹⁾ ergänzten diese Befunde, indem sie nachwiesen, daß Preßsaft, der durch Lagern unwirksam geworden ist, nicht nur seiner Gärkraft, sondern auch des Koenzyms beraubt ist. Wahrscheinlich geschieht das letztere nicht wie das erstere durch die Endotryptase (s. o.), sondern durch eine Lipase. Vielleicht ist das Koenzym ein organischer Phosphorsäureester, der durch Lipase unter Abspaltung von Phosphorsäure verseift wird. Auch glyzerinphosphorsaures Natron erhöhte die Gärkraft des Preßsaftes auf über das doppelte, ebenso Lezithin und sekundäres Natriumphosphat, war freilich nicht imstande, den durch Gärung unwirksam gewordenen Preßsaft wirksam zu machen.

Eine wichtige Frage ist die, ob alle Organismen, die alkoholische Gärung zu erregen vermögen, sich gegenüber den Zuckerarten gleich verhalten, mit anderen Worten, ob man die Einheit des Alkoholfermentes, der Zymase, mit Grund annehmen darf. Zunächst müßte der Beweis für Bakterien, Pflanzen und Tiere noch genauer geführt werden. Man kennt aber auch für die Hefen selbst einige Tatsachen, die gegen die Einheit sprechen. Folgende Übersicht, die wir nach den Erfahrungen von L i n d n e r (S. 249) zusammenstellen, belehrt uns über das Gärvermögen verschiedener Heferassen gegenüber den 4 vergärbaren Hexosen. Das Gärvermögen ist mit Zahlen von 0 bis 3 bezeichnet.

	d-Glykose	d-Mannose	d-Galaktose	d-Fruktose
Hefe „Logos“	3	3	2	3
„ aus Zuckerrohrmelasse	3	3	0	3
Schizosaccharomyces Pombe	3	0	0	3
„ mellacei	2	2	0	2
„ octosporus	2	2	1	3
Sacchar. apiculatus	1	1	1	3
„ „ (Leipzig)	3	0	0	3
„ exiguus	3	0	1	3
„ Ludwigii	3	2	1	3
„ membranaefaciens	1	0	0	1
„ farinosus	1	0	0	3
Monilia variabilis	3	0	2	3

Während die Hefe Logos, Sacch. Ludwigii und membranaefaciens in ihrem Gärvermögen gegenüber den Hexosen die gewöhnliche Reihenfolge zeigen und nur in der Intensität der Enzymwirkung aus einander gehen, weichen die übrigen Rassen mehr oder weniger von der

1) Biochem. Zeitschr. 8, 1908.

Regel ab. So vergären Schizosacch. Pombe und Sacch. apiculatus (Leipzig) Glykose und Fruktose sehr gut, lassen aber Mannose und Galaktose ganz unberührt. Fruktose wird am stärksten vergoren von Schizosacch. octosporus, Sacch. apiculatus und farinosus. Die Hefen aus Zuckerrohrmelasse und Schizosacch. mellacei greifen die Mannose ebenso energisch an wie Glykose und Fruktose, die Galaktose gar nicht, umgekehrt vergärt *Monilia variabilis* die Galaktose, nicht die Mannose. Aber auch diejenige Kombination, die in obiger Tabelle fehlt, findet sich bei gewissen Arten von Hefen, den sogenannten Milchzuckerhefen (vgl. § 82); von ihnen wird nämlich der Regel nach die Galaktose kräftiger angegriffen als die Glykose (M a z é).

Mag auch hier und da bei diesen Proben eine Zufälligkeit untergelaufen sein, die das Resultat getrübt hat, über alle Unregelmäßigkeiten dürfen wir uns durch diesen Einwand nicht hinwegtäuschen lassen, sie führen vielmehr zu dem Schluß, daß das gärende Prinzip, das E. Buchner als Zymase bezeichnet hat, keine einheitliche Substanz ist, sondern daß wir vielleicht berechtigt sind, Teilzymasen, etwa eine Glyko-, Frukto-, Manno- und Galakto-Zymase anzunehmen. Nach den Erfahrungen, die wir bei den hydrolytischen Enzymen gemacht haben, kann uns diese Mannigfaltigkeit der Fermentwirkungen kaum noch verwundern.

In demselben Sinne lassen sich die Ergebnisse deuten, die D i e n e r t¹⁾ bei seinen Versuchen über die Anpassungsfähigkeit des Gärvermögens der Hefen bekommen hat. Alle Heferassen, auch diejenigen, die Galaktose gar nicht vergären, sollen sich, sofern sie überhaupt Gärung erzeugen, an die Vergärung dieses Zuckers gewöhnen lassen. Am besten gelingt das bei Kultur in stickstoffreicher Lösung, die neben Galaktose Glykose enthält, wie schon D u b o u r g²⁾ behauptet hatte. Dabei wird nicht etwa die Galaktose mit in die Gärung „hineingerissen“ (B o u r q u e l o t³⁾), sondern sie wird später auch ohne die Glykose vergoren. D i e n e r t will übrigens diese Tatsache nicht durch die Annahme zweier verschiedener Zymasen für die Glykose und Galaktose erklären, sondern durch Veränderungen in dem Bau der einen Zymase. Uns scheint die erste Vorstellung besser begründet. Es darf dabei nicht verschwiegen werden, daß andere Forscher, wie v a n L a e r⁴⁾ und die H a n s e n s c h e Schule überhaupt

1) Annal. Pasteur 1900.

2) Compt. rend. ac. sc. 129. 63.

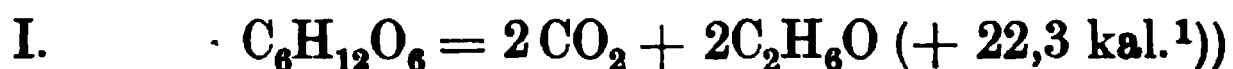
3) Ebenda 106. 283.

4) Kochs Jahresber. 1896, 97.

die Möglichkeit solcher Anpassungen leugnen. Sie halten das Gärvermögen für eine — wenigstens qualitativ — beständige Rasseeigenschaft der Hefe.

Vorläufig müssen wir uns in dieser Frage auf Vermutungen beschränken, da unsere Kenntnisse über die Zymase noch auf viel zu wenig umfangreichen Feststellungen beruhen. Bisher haben wegen der Schwierigkeiten, welche die Darstellung dieses Enzyms mit sich bringt, nur wenige Forscher sich damit beschäftigt. Von einem Verfahren, die Zymase auch nur so weit zu isolieren, wie es bei anderen Enzymen möglich gewesen ist, kann überhaupt noch keine Rede sein. Nicht weniger als fast die ganze protoplasmatische Substanz der Zellen haftet den besten Präparaten noch an.

§ 90. Erzeugnisse der alkoholischen Gärung. Wenn man auch schon seit L a v o i s i e r annahm, daß der Zucker bei der Gärung in Alkohol und Kohlensäure zerfällt und seit G a y - L u s s a c (1815) die alkoholische Gärung durch die Gleichung



ausdrückte, so wußte man doch schon, daß Alkohol und Kohlensäure nicht die einzigen Gärprodukte sind. Aber erst P a s t e u r ²⁾ war es, der die Natur der N e b e n p r o d u k t e im wesentlichen richtig feststellte. Er fand 2,5—3,6% des vergorenen Zuckers als G l y z e r i n, 0,4—0,7% als B e r n s t e i n s ä u r e wieder. D u c l a u x bestimmte dann noch ca. 0,05% als E s s i g s ä u r e ³⁾. Dazu kommen Spuren von Ameisensäure, Aldehyd (R o e s e r ⁴⁾, K a y s e r ⁵⁾), Azetal, wechselnde Mengen Propyl-, Isobutyl, Hexyl- und namentlich Amylalkohol, deren Gemisch als F u s e l ö l bekannt ist, ätherartige Stoffe, die das „Bouquet“ (Blume, Aroma) des Weins bedingen, und F u r f u r o l. Doch ist sowohl die Herkunft des Fuselöls als des Furfurols aus dem Stoffwechsel der Hefe bestritten (C h a p m a n n

1) Über die Wärmebildung bei der alkoholischen Gärung vgl. § 237, Über die eigentümliche Geschichte dieser Gleichung s. D u c l a u x, Mikrobiol. 3. 264 ff.

2) a. a. O. (§ 84); vgl. Mach und Portele, Landwirtsch. Versuchsstation. 41. 233; Thylmann und Hilger, Arch. Hyg. 8; Raueb. 14; Wortmann, Landwirtsch. Jahrb. 1894. Als Minimum fanden sich 0,2—0,3% Bernsteinsäure und 0,8—1,9% Glyzerin.

3) Nach H e i n z e (Zeitschr. f. Hyg. 46. 325) werden wahrscheinlich außer Ameisensäure noch Spuren anderer Säuren (Wein- und Äpfelsäure) bei der normalen Weingärung gebildet. Sehr hohe Zahlen für Essigsäure findet M a z é (Annal. Pasteur 1904. 294) bei der von ihm studierten Hefe.

4) Annal. Pasteur 1893.

5) Ebenda.

und G e n t i l¹⁾, E m m e r l i n g²⁾) und auf Bakterienwirkung zurückgeführt worden. Nach K r u i s und R a y m a n³⁾ würden sie zwar von der Hefe gebildet aber nur bei Verwendung bestimmten fetthaltigen Gärmaterials, nach F. E h r l i c h⁴⁾ ebenfalls von der Hefe selbst, aber aus dem Leuzin und Isoleuzin des Nährbodens, nach E f f r o n t⁵⁾ auch bei der Selbstverdauung der Hefe. Durch die F. E h r l i c h schen Arbeiten scheint die Frage endgültig entschieden zu sein, eine wesentliche Beteiligung von Bakterien wäre übrigens nach P r i n g s h e i m⁶⁾ schon deshalb ausgeschlossen, weil die von ihnen gebildeten höheren Alkohole eine andere Zusammensetzung haben, nämlich zum größten Teil nicht aus Amyl-, sondern aus Butylalkohol bestehen.

Die Bouquetstoffe (vgl. § 95) entstammen teilweise nicht der Hefewirkung, sondern den Trauben selbst (W o r t m a n n⁷⁾) oder werden erst bei der Destillation erzeugt, zum Teil entstehen sie aber sicher durch die Tätigkeit der Hefe selbst. Nach B o k o r n y⁸⁾ würden sie durch eine Fermentwirkung, vielleicht die Zymase selbst gebildet, denn wenn man große Mengen gärfähigen Zuckers, z. B. 66 g mit 100 g Preßhefe zusammenbrächte, träte Gärung und Aromabildung ein. Absterbeprozesse kämen dabei nicht in Frage, denn Milchzucker bliebe ohne Wirkung. Nach F. E h r l i c h spielen aber bei der Bildung der Bouquetstoffe ebenso wie bei der der A m e i s e n s ä u r e und des A l d e h y d s vielleicht ähnliche Vorgänge mit, wie bei der des Fuselöls. In der Tat gelang es ihm, aus aromatischen Aminosäuren durch Gärung mit Hefe Riechstoffe darzustellen (§ 173). Die chemische Beschaffenheit des Hefearomas ist allerdings zum großen Teil noch unbekannt. Doch erzeugen die Fruchttätherhefen L i n d n e r s vorwiegend Essigäther. Zu dem bei der eigentlichen Gärung entwickelten Aroma gesellen sich später beim Lagern und Reifen Bouquetstoffe, die wahrscheinlich nicht bloß durch langsame Oxydationen und Reduktionen, sondern auch durch Mikrobewirkung gebildet werden (W o r t m a n n⁹⁾). Über die Entstehung von Riechstoffen aus Glykosiden vgl. Kap. VIII.

1) K o c h s Jahresber. 1897. 101.

2) Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1904. 477.

3) Ebenda 311.

4) Zeitschr. Verein f. Rübenzuckerindustrie 1905. Über die chemische Natur der Vorgänge und andere Fuselölbildner vgl. § 173.

5) K o c h s Jahresber. 1905. 204.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 300. Ber. chem. Ges. 1905. 486. vgl. aber § 115 und 173.

7) Landwirtschaftl. Jahrb. 1892.

8) Chem. Zeitg. 1904, 24.

9) Landwirtschaftl. Jahrb. 1898.

Früher war man darüber im Unklaren, ob man das in erheblichen Mengen gebildete Glyzerin und die Bernsteinsäure als Produkte der Gärung oder des sonstigen Stoffwechsels der Hefe auffassen sollte. P a s t e u r selbst hat schon für beide Stoffe eine Gärformel angegeben:



Doch wäre es bei dem schwankenden Verhältnis, in dem beide Substanzen auftreten, besser, sie getrennt aus den Zahlen entstehen zu lassen nach den Formeln (D u c l a u x¹⁾):



Wenn man die Formeln I—III miteinander vereinigt, etwa wie folgt:

$$124 \times \text{I} + 6 \times \text{II} + 1 \times \text{III}$$

so erhält man die einzelnen Gärprodukte in der gewöhnlichen Mischung.

Nach der Entdeckung der Zymase lag es nahe, die quantitativen Verhältnisse der Gärung einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen. B u c h n e r und R a p p²⁾ fanden dabei zunächst, daß auch bei der zellenfreien Gärung Kohlensäure und Alkohol ungefähr zu gleichen Teilen entstehen. So lieferten z. B. 22,5 g Azeton-Dauerhefe aus 17,96 g Rohrzucker 8,05 g CO₂ und 8,10 g Alkohol³⁾, d. h. im ganzen 16,15 g, während lebende Hefe nach J o d l b a u e r⁴⁾ 8,81 g CO₂ und 9,18 g Alkohol, zusammen 17,99 g erzeugt hatten, und nach der G a y - L u s s a c s c h e n Formel I 9,24 g CO₂ und 9,66 g Alkohol, also zusammen 18,9 g hätten entstehen müssen, wenn Glyzerin, Bernsteinsäure und andere Nebenprodukte vollständig gefehlt hätten. An diesem Ergebnis ist auffällig, daß trotz der reichlichen Mengen von Zymase die Spaltung des Zuckers keine vollständige war, sondern 10—15% davon nicht in den Gärprodukten — auch nicht in Form von Glyzerin und Bernsteinsäure, s. u. — erschienen. Dabei gelang es weder durch die Reduktion mit Fehlingscher Lösung noch durch Ausziehen des Trockenrückstandes mit Alkohol, diese fehlende Menge des Zuckers nachzuweisen. Es war also nicht als wahrscheinlich zu bezeichnen, daß die Vergärung eine unvollständige war, indem etwa vor ihrer Vollendung ein Gleichgewichtszustand, wie bei der Spaltung der Stärke durch Diastase eingetreten wäre. Eine Erklärung dafür ergäbe sich nach

1) Mikrobiol. 3. 401.

2) Zymasegärung, S. 210.

3) Nach Abrechnung der Mengen Alkohol, die in der Dauerhefe von vornherein vorhanden waren und derjenigen, die bei der Vergärung des in der Dauerhefe anwesenden Glykogens auftreten mußten.

4) Zeitschr. f. das gesamte Brauwesen 1888. 252.

Macfadyen, Morris und Rowland (S. 257) durch die Annahme, daß durch Anlagerung von Zymase an den Zucker Zwischenprodukte entstünden, die bei der gewöhnlichen Gärung wieder unter Bildung von Alkohol und Kohlensäure und Regeneration des Enzyms zerfielen, bei der zellenfreien Gärung aber teilweise unverändert zurückblieben. Man könnte aber auch daran denken, daß bei der Zymase-wirkung synthetische Enzyme zur Geltung kämen, die Zucker zu Dextrinen oder Glykogen kondensierten oder an irgendwelche Bestandteile der Hefezelle bänden, wie es beim Wachstum der lebenden Hefe auch geschieht (§ 91). Für diese Möglichkeit spricht die von Harden und Young (S. 257) ermittelte Tatsache, daß es durch Hydrolyse mit Salzsäure gelingt, den in Verlust gegangenen Zucker wiederzugewinnen. Auch Buchner und Meisenheimer¹⁾ schlossen auf Grund ähnlicher Befunde, die erhebliche Mengen von Polysacchariden ergaben, auf die Wirkung eines aufbauenden Enzyms in dem Hefepreßsaft.

Ein anderes synthetisches Enzym, das Phosphate in organische Bindung überführt, fand Iwanoff²⁾ im Filtrat der durch Zymase vergorenen Flüssigkeit. Dieser Stoff, die Triosephosphorsäure, werde durch frische Zymase wieder vergoren zu Kohlensäure, Alkohol und Phosphorsäure. Daraus soll sich die Beförderung der Zymasegärung durch Phosphate erklären.

In ihrer genannten Arbeit fanden E. Buchner und Rapp, daß Glyzerin und Bernsteinsäure sehr wahrscheinlich, wenn überhaupt, nur in kleinen Mengen bei der zellfreien Gärung entstünden. Weitere Untersuchungen von Buchner und Meisenheimer³⁾ ergaben aber, daß bei der zellfreien Gärung zwar Bernsteinsäure so gut wie völlig fehlte, aber Glyzerin in Mengen von 5—16% des Alkohols gebildet wurde. Die von Delbrück⁴⁾ ausgesprochene Vermutung, das Glyzerin entstamme einer Lipaseeinwirkung auf das Fett der Hefezellen, vermögen Buchner und Meisenheimer nicht anzuerkennen, weil sie höhere Fettsäuren in entsprechender Menge vermißten, sind aber ihrerseits nicht imstande, den Ursprung des Glyzerins aufzuklären. Man wird vielleicht nicht fehlgehen, wenn man ein besonderes, Zucker zu Glyzerin spaltendes Enzym in der Zymase voraussetzt. Bei der Milchsäuregärung durch

1) Ber. chem. Gesellsch. 1906, 3201.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 24. 1909.

3) Ber. chem. Ges. 1906. 3201.

4) Woch. Brauerei 1903. 7. Seifert und Reisch, Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 574, 1904, fassen das Glyzerin wieder als „Stoffwechselprodukt“ der Hefe auf.

Bakterien begegnen wir ausnahmsweise ähnlichen Glyzerinmengen (§ 106), nicht selten übrigens auch erheblichen Mengen von Bernsteinsäure (§ 107).

Weiter wurde durch verschiedene Forscher gezeigt¹⁻³), daß bei der Zymasegärung (unter Sauerstoffabschluß) Essigsäure bis zu 0,33%, (inaktive) Milchsäure, die man bei der Gärung durch lebende Hefe überhaupt nicht findet, bis zu 0,47% (des Preßsaftes) entstehen. Buchner und Meisenheimer glauben damit den Beweis geliefert zu haben, daß die Milchsäure, wie schon früher vermutet (S. 252), ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung sei. Sie nehmen jetzt zwei Enzyme in der Hefe an, die eigentliche Zymase („Hefenzymase“ im Gegensatz zur „Bakterienzymase“), die aus dem Zucker Milchsäure, und die Laktazidase, die aus der Milchsäure Alkohol und Kohlensäure bilde. Die Essigsäure würde ebenfalls durch ein besonderes Enzym, das den Zucker in 3 Moleküle Essigsäure spaltet, die „Glukazetase“, gebildet (vgl. § 103). Die Frage ist, wie schon früher bemerkt, noch nicht spruchreif.

Amylalkohol fanden auch Buchner und Meisenheimer (wie Ehrlich und Pringsheim a. a. O.) bei der Zymasegärung nur in Spuren, heben aber selbst hervor, daß das gegen die Ehrliche Theorie von der Entstehung des Fuselöls aus Leuzin nichts beweise. Da es mit der Bernsteinsäure sich ähnlich verhält, könnte man bis zum Beweise des Gegenteils allenfalls noch die, übrigens von Ehrlich ausgesprochene, Vermutung zulassen, daß dieser Stoff auch nicht dem Zucker, sondern einer Aminosäure (etwa der Asparaginsäure) entstamme (vgl. § 169).

§ 91. Einfluß des Hefewachstums und des Sauerstoffzutritts auf die Gärung. Selbstvergärung. Bei der Alkoholgärung durch lebende Hefe wird ein Teil des Zuckers, wie Pasteur zuerst gefunden, zum Aufbau der Hefesubstanz verwendet. Je nach der Intensität des Wachstums wechselt natürlich die dafür verbrauchte Zuckermenge. Sie ist um so größer, je reichlicher der Sauerstoffzutritt. Wir werden bei Besprechung der Ausnützung der Nährböden die Beweise dafür erörtern und gleichzeitig dabei sehen, in welcher Weise durch den Sauerstoff die Gärung beeinflußt wird (§ 233). Es findet sich der Pasteursche Satz bestätigt, daß das Gärvermögen der Hefe, d. h. das Verhältnis des vergorenen Zuckers zu der gebildeten Hefesubstanz um so

1) Ahrens, Zeitschr. angew. Chem. 1900, 483 (Milchsäure).

2) Buchner, Zymasegärung S. 224 (Essigsäure).

3) Buchner und Meisenheimer, Ber. chem. Ges. 1904, 426 und 1905, 620.

größer ist, je stärker der Sauerstoffzutritt beschränkt ist. Andererseits ist als erwiesen zu betrachten, daß die Zymasewirkung selbst durch die Abwesenheit oder Gegenwart des Sauerstoffs nicht beeinflußt wird¹⁾ und daß, entgegen der Pasteurschen Ansicht die Gärung der lebenden Hefe auch bei reichlichem Sauerstoffzutritt eintritt und energisch verläuft²⁾. Man kann das auch so ausdrücken, daß man sagt: der Zymasegehalt oder die Zymasewirkung der lebenden Hefezelle ist verhältnismäßig um so größer, je weniger Sauerstoff ihr geboten wird, je langsamer sie also wächst, er fehlt aber auch der aërob wachsenden Zelle nicht. Man darf daraus nicht etwa den Schluß ziehen, daß die Gärungstechniker gut daran täten, in der Brauerei und Brennerei den Sauerstoffabschluß streng durchzuführen. Zweierlei Gründe sprechen dagegen: erstens kommt es der Technik nicht auf das relative Gärvermögen der Hefezelle an, sondern darauf, daß eine möglichst große absolute Menge des Gärprodukts in möglichst kurzer Zeit erzielt wird. Nun ergibt sich aber schon aus den Pasteurschen Versuchen, daß, je vollständiger der Sauerstoff von der Gärung abgeschlossen wird, die letztere um so langsamer verläuft (§ 233). Die Rücksicht darauf verlangt für den Sauerstoffabschluß schon eine gewisse Beschränkung. Ebenso wichtig ist aber die Tatsache, daß die Hefe durch das Leben ohne Sauerstoff entschieden geschädigt wird, daß sie dadurch in ihrer Fähigkeit zu wachsen und auf die Dauer Zymase zu produzieren, Einbuße erleidet. Diese Gründe machen es erklärlich, daß die Technik nicht den völligen Abschluß des Sauerstoffes bei der Gärung, sondern nur mäßige Lüftung anwendet, die bei großer Hefenaussaat eine gute Ausnutzung des Gärmaterials, schnelle Gärung und dauernde Lebens- und Gärfähigkeit der Hefe gewährleistet.

Einige besondere Fälle verdienen noch eine Besprechung, weil sich an sie lebhafte Erörterungen angeschlossen haben. Wird eine sehr große Hefenmenge (z. B. 20 g) in eine reine Zuckerlösung (100 ccm einer 10 prozentigen Lösung) eingebracht, so gerät diese in lebhafte

1) Grigoriew, Zeitschr. physiol. Chem. 42; Buchner und Antoni, ebenda 44, 1905.

2) Das gilt übrigens nur für die gewöhnliche Bierhefe, Schizosacch. Pombe ist empfindlicher gegen Sauerstoffmangel, der überhaupt nicht vergärende Sacch. membranaefaciens kann gar nicht ohne Sauerstoff existieren (Leschsch, Zentr. Bakt. 2. Abt., 12 und 13, 1904).

Gärung, ohne daß eine deutliche Vermehrung der Hefezellen eintritt. Ja, es kann sogar das Hefegewicht dabei abnehmen. Für uns hat diese Tatsache kaum etwas Unerklärliches mehr, seitdem wir die Zymase kennen. Diese wird Gärung erzeugen, solange sie noch in den Zellen vorhanden ist, ob Wachstum erfolgt oder nicht. P a s t e u r hat die Schwierigkeit, die für seine vitalistische Theorie daraus entstand, dadurch zu überwinden gesucht, daß er nicht bloß die Hefengewichte, sondern auch die Menge der in der Gärflüssigkeit nach der Gärung gefundenen, in Alkohol und Äther unlöslichen Stoffe bestimmte. Er fand erhebliche Mengen davon und wies nach, daß in jedem Falle die Summe des Hefegewichts und dieser Stoffe größer war als das ursprüngliche Hefegewicht. Nach ihm geben die Hefezellen, wenn sie in eine reine Zuckerlösung gebracht werden, eine gewisse Menge ihrer stickstoffhaltigen Zellstoffe und Salze an sie ab¹⁾, assimilieren dafür aber eine gewisse Menge Zucker, so daß man in Wirklichkeit auch in diesem extremen Falle von einem Wachstum sprechen dürfe. Man kann diese Auffassung vielleicht mit der Abweichung annehmen, daß bei der mangelhaften Ernährung wenigstens ein Teil der massenhaft eingesäten Hefezellen durch Selbstverdauung (§ 9) zerfällt und dadurch für den Rest die außer dem Zucker nötigen Stoffe zum mäßigen Wachstum gewährt. So würde sich die erhebliche Gärleistung auch durch eine gewisse Neubildung von Zymase erklären.

Einige Versuche B r o w n s ²⁾ würden darauf schließen lassen, daß die P a s t e u r s c h e Deutung (s. o. S. 265) doch nicht stichhaltig ist. Der Autor fand nämlich, daß Hefe bei sehr großer Einsaat eine gute Nährlösung etwas stärker vergärt, wenn Sauerstoff, als wenn Wasserstoff durchgeleitet wurde, ohne daß sich eine Sprossung der Zellen hätte nachweisen lassen. Auch war die Gewichtszunahme, die in einem anderen ähnlichen Versuche in mäßigem Grade eintrat, in Wasserstoff etwas größer als in Luft. V a n L a e r ³⁾ beobachtete ebenfalls an Hefe, die verhindert war zu wachsen, höhere Gärkraft, wenn während der Gärung gelüftet wurde. Unter normalen Verhältnissen fand er hingegen das Pasteursche Gesetz durchaus bestätigt. I w a n o w s k i ⁴⁾ will wiederum einen Einfluß des Sauerstoffzutritts oder -abschlusses auf die Gärung überhaupt nicht zugeben. Uns scheint, daß man aus Versuchen, die unter so abnormen Bedingungen und meist noch nicht einmal mit Reinkulturen vorgenommen wurden, keine bindenden Schlüsse ziehen darf. Auch von

1) Vgl. aber I w a n o f f § 92.

2) K o c h s Jahresber. 1892. 101.

3) K o c h s Jahresber. 1893. 137.

4) Ebenda 1894. 116.

den Versuchen Chudiakows³⁾ gilt das. Chudiakow hatte gefunden, daß bei mäßiger Einsaat von Hefe in reines Zuckerwasser die Durchleitung von Sauerstoff die Gärung beeinträchtigt, die von Wasserstoff sie unterhält. Buchner und Rapp⁴⁾ sahen ihrerseits bei beiden Verfahren kaum einen Unterschied, höchstens war umgekehrt bei Sauerstoffdurchleitung die Gärung etwas lebhafter, und zwar anscheinend aus dem Grunde, weil dabei eine geringe Vermehrung der Hefe stattfand. Außerdem ergaben aber die Versuche, daß die mechanische Erschütterung, wie sie die Folge der Gasdurchleitung ist, durchaus nicht gleichgültig, sondern schädlich ist für die Hefe. Das bestärkt uns erst recht in unserer Abneigung, die Ergebnisse der Gärversuche mit Zellen, die einer doppelten Schädlichkeit, dem Nahrungsmangel und der Erschütterung unterliegen als maßgebend für die normalen Verhältnisse anzusehen. Soweit letztere in Frage kommen, haben gerade Buchner und Rapp (§ 233) die gewichtigsten Beweise für die Richtigkeit der Pasteurschen Lehre erbracht.

Ein weiterer Fall ergibt sich, wenn frische lebenskräftige Hefe von den anhaftenden Nährstoffen durch Auswaschen befreit und dann mit genügenden Mengen Wasser bei günstiger Temperatur (20—30°) sich selbst überlassen wird. Dann tritt die sogenannte Selbstvergärung der Hefe ein. Nach unseren heutigen Kenntnissen bietet sie nichts Wunderbares: Hefepreßsaft allein verfällt demselben Prozeß. Das Gärsubstrat sind die Kohlenhydrate, vor allem das Glykogen, das die Hefezellen enthalten (vgl. § 27). Je größer der Vorrat daran, desto kräftiger die Selbstgärung. Völlig unerklärlich und Buchners Erfahrungen durchaus widersprechend ist aber die Angabe von Macfadyen, Morris und Rowland (S. 257), daß in nahezu jedem Fall durch die Selbstgärung des Preßsafts mehr Gas erhalten wurde, als wenn die Gärung in Gegenwart von Rohrzucker vor sich ging.

§ 92. Selbstverdauung der Hefe und ihre Hemmung. Ist der Zuckergehalt der Hefe durch Selbstvergärung erschöpft, so tritt schließlich der letzte Fall, die Selbstverdauung der Hefe d. h. Zellenzerfall und Zersetzung ihrer Eiweißkörper durch die Endo-tryptase ein, die stets die Zymase begleitet (§ 9 u. 166).

Die eben erwähnte Beobachtung Pasteurs, nach der die Gärung der Hefe in reinen Zuckerlösungen mit Stickstoffausscheidung einhergeht, ist zwar von vielen Forschern wieder gemacht worden, wird aber

3) Landwirtsch. Jahrb. 1894.

4) Zeitschr. f. Biol. 37, vgl. S. 150.

von I w a n o f f ¹⁾ neuerdings auf zu lange Dauer der Versuche, die das Absterben der Hefezellen bewirken, oder die Gegenwart von Bakterien zurückgeführt und für kurze Zeit dauernde Versuche nicht bestätigt: der Eiweiß- und Stickstoffgehalt der Hefe solle sich trotz kräftiger Gärung gar nicht verändern. Erst wenn der Zucker der Zelle entzogen wird, nimmt ihr Eiweißgehalt ab, ergänzt sich aber wieder, wenn man neuen Zucker zufügt, doch nur etwa zur Hälfte, die übrige Hälfte der stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukte scheint zur Synthese nicht geeignet zu sein.

Der Grund dafür, daß keine Eiweißzersetzung während der Gärung stattfindet, liegt anscheinend darin, daß die Gärung Stoffe bildet, die die Eiweißzersetzung, die Selbstverdauung hemmen. I w a n o f f glaubt das durch besondere Versuche bewiesen zu haben. Die Selbstverdauung der durch Thymol- oder Chloroformzusatz getöteten und bei 47° gehaltenen Hefe war sehr viel geringer, wenn die Hefe vorher zur Gärung benutzt war; Zusatz von Gärflüssigkeit, die durch Porzellan filtriert war, hemmte ebenfalls. Die hemmenden Stoffe haben fast den Charakter von Fermenten, denn Kochen zerstört sie fast völlig. I w a n o f f schreibt die Rolle fruchtätherähnlichen, aldehydartigen Substanzen zu, denn Kochen mit Rückflußkühler ist unschädlich. Jedenfalls ist der Alkohol nicht an der Hemmung schuld: Zusatz von Monokaliumphosphat beseitigt die Hemmung und beschleunigt die Selbstverdauung.

§ 93. Gärungsgeschwindigkeit, Gärvermögen und Vergärungsgrad. Nach Brown (§ 91) und Slator²⁾ hat — für eine bestimmte Heferasse — die Konzentration der Zuckerlösung, innerhalb der Grenzen von 5 bis 20% und in den ersten drei Stunden keinen erheblichen Einfluß auf die Intensität des Gärungsprozesses, während 30proz. Lösungen schon langsamer vergoren wurden. Das ist nicht Folge des höheren spezifischen Gewichts resp. osmotischen Drucks, denn die Vergärung einer Lösung, die 15% Dextrose und 15% Milchzucker enthält, ist viel lebhafter, als die einer 30 prozentigen Dextroselösung. Auch die zellfreie Gärung mit Zymase oder Zymin zeigt ein ähnliches Verhalten (B u c h n e r, G r i g o r i e w). Die nach einem anderen Verfahren³⁾ ermittelte Gärungsgeschwindigkeit ist nach S l a t o r

1) Zeitschr. physiol. Chem. 42, 1904.

2) Transactions chem. soc. 1906 vgl. Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 771.

3) Als Maß der Gärkraft sind verschiedene Bezeichnungen im Gebrauch, die leider aber nach den Autoren wechseln. P r i o r (Chem. und Physiol. des Malzes und Bieres 1896) nennt Gärungsenergie die Anzahl Milligr. Saccharose die von einer Million Hefezellen bei Zimmer-

innerhalb der Grenzen von 0,4—10% ebenfalls fast unabhängig von der Zuckerkonzentration, gleichgültig, welcher Zucker, und ob man lebende Hefe oder Zymase nimmt.

Die Dauer der Gärung ist nach Dumas¹⁾ annähernd der vorhandenen Zuckermenge proportional, doch gilt das nur innerhalb der beprobenen Grenzen, denn über einen gewissen Gehalt an Alkohol geht die Gärung nicht hinaus. Dieser Endgehalt schwankt, ebenso wie die Gärungsenergie (s. o.) nach den einzelnen Rassen und Arten der Gärungserreger. Bei der Bier- und Weinhefe geht das Maximum des produzierten Alkohols nicht über 12—14% Alkohol hinaus. Für *Mucor racemosus* fand Hansen 7%, für *Mucor mucedo* 3% (in einem Jahre). Woran der Stillstand der Gärung in diesen Fällen liegt, ist noch nicht ganz klar gestellt. Sehr wahrscheinlich ist es aber zum Teil der Gehalt der Gärflüssigkeit an Gärprodukten, der schädlich auf die Weiterentwicklung der Mikroorganismen wirkt (§ 47). Z. B. wies Prior²⁾ für die Hefe „Saaz“ nach, daß ihr niedriger Endvergärungsgrad sich durch die Empfindlichkeit gegen ihre eigenen Produkte erklärt; werden dieselben durch Überdestillieren im Vakuum entfernt, so läßt sich auch mit dieser Hefe eine stärkere Vergärung erzielen. Nicht bloß die eigenen Produkte, sondern auch die anderer Hefen wirken schädigend auf Gärung und Vermehrung, doch nur in bestimmter Konzentration, in kleinen Mengen können sie vielleicht, wie andere Gifte (s. u.) Reize vorstellen³⁾.

Außer den Selbstgiften hemmen die Gärung der lebenden Hefe alle Antiseptika, wenn sie in stärkerer Konzentration zur Einwirkung gelangen. Dabei gilt die Regel, daß zunächst nur die Lebensfähigkeit, d. h. Wachstum, Vermehrung und Zymasebildung der Hefe dadurch aufgehoben wird, nicht die Gärtätigkeit, d. h. die Zymasewirkung. Die Zymase wird z. B. nach Buchner von 1% Toluol gar nicht beeinflusst, von 0,24% Formaldehyd und 14% Alkohol nur gehemmt, während schon 0,04% Formaldehyd und 10—14%

temperatur nach 4 Tagen, bei Kellertemperatur nach 8 Tagen vergoren werden, und Gärvermögen, die von einer Million Hefezellen am Ende des Versuches vergorenen Saccharosemengen. Slaton (s. o.) mißt die Gärungsgeschwindigkeit durch die Druckveränderung, die durch die Kohlensäureentwicklung in einem mit einem Manometer verbundenen geschlossenen Gefäße erfolgt.

1) Annal. chim. et phys. 1874.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 432.

3) Thibaut, Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 20, 1902, sah einen solchen Einfluß der eigenen und fremder Produkte freilich nicht regelmäßig beim Studium der Vermehrungs- und Gärungsenergie lebender Hefe. Gri-

Alkohol die Hefegärung unterdrücken¹⁾. Nach Grigoriew begünstigt Gegenwart von Alkohol oder Chinin die Gärwirkung der Dauerhefe, weil diese Stoffe den schädlichen Einfluß des proteolytischen Enzyms der Hefe vermindern. Umgekehrt wirken Kalisalpeter oder Chlorkalzium schädlich auf die Gärung, weil sie die proteolytischen Enzyme befördern. Blausäure hebt dagegen die zellfreie Gärung sofort auf, wie sie auch andere Enzyme lähmt.

Von der eigentümlichen die Gärwirkung steigern den Wirkung stark verdünnter Gifte, besonders der Flußsäure und ihrer Salze auf die lebende Hefe haben wir schon § 55 gesprochen²⁾. Auf die Zymasegärung selbst wirkt Natriumfluorid in Lösungen von 0,5 bis 2% sehr schädlich.

Während wir § 41 gesehen haben daß das Wachstum der Hefe durch leicht saure Reaktion des Nährbodens verbessert wird, haben Buchner und Wroblewski³⁾ einen günstigen Einfluß der alkalischen Reaktion auf die Zymasewirkung beobachtet. Nach dem ersteren Autor beschleunigt namentlich der Zusatz von Natriumbiphosphat bis zu 4% die Zymasegärung sehr bedeutend. Umgekehrt hemmt saure Reaktion wenigstens anfangs die Gärung.

Über den Einfluß der Konzentration der Gärflüssigkeit wurde oben schon gesprochen, ihre Verdünnung hat auf die Tätigkeit der lebenden Hefe insofern eine Wirkung, als sie das Wachstum und damit auch die Gärung verlangsamt. Das gleiche ist der Fall bei der Zymase. Wenn nicht nur die Zuckerlösung, sondern auch die Zymase selbst stark verdünnt ist, wird die Intensität der Gärung allerdings unverhältnismäßig gering. Das hat aber nach Buchner und Meisenheimer nur den Grund, daß das Gärungsenzym in der verdünnten Flüssigkeit seine Wirksamkeit, wie andere kolloidale Stoffe, schneller verliert. Setzt man daher unter sonst gleichen Verhältnissen z. B. bei 25 facher Verdünnung des Preßsaftes 10% Glyzerin oder Eiweiß zu, so erhält man wieder eine kräftige Gärung.

Salze von Alkalien und alkalischen Erden stören schon in wenigen Prozentsen zugesetzt die zellfreie Gärung erheblich, ähnlich, wie sie

goriew (Zeitschr. physiol. Chem. 42, 1904) fand, daß die Dauerhefe (Zymase) kräftiger wirkt in einer Mischung, die schon vorher durch Zymase vergoren worden ist, hier findet also ebenfalls eine Förderung der Gärung durch die eigenen Gärprodukte statt.

1) Zymasegärung, vgl. auch Buchner und Antoni, Zeitschr. physiol. Ch. 44. 222, 1905.

2) Die Gärgeschwindigkeit nach Slators Methode gemessen (s. o.) soll dagegen durch verdünnte Gifte nicht beeinflußt werden.

3) Journ. prakt. Chem. 2. Serie, 64.

auch andere Enzyme (z. B. Diastase und Invertase) schädigen. Über die entgegengesetzte Wirkung des sekundären phosphorsauren Natriums, sowie des glyzerinphosphorsauren Natrons, wurde früher gesprochen (s. Koenzym S. 257).

Was den Einfluß der Temperatur auf die Gärung durch lebende Hefe angeht, so ist bekannt, daß die mittleren Temperaturen von 20 bis 30° am günstigsten für sie sind, während die Annäherung an 40° nach oben und 0° nach unten die Gärung aufhebt¹⁾. Ähnlich scheinen die Dinge zu liegen für die Zymase, nur tritt bei dieser das tryptische Enzym bei Temperaturen von über 20° als schädliches Moment auf, so daß bei 30° die Zymasewirkung schon nach einem Tage, bei 22° nach 2 Tagen ihr Ende erreicht, während sie bei 5—7° noch am 16. Tage merkbar fortschreitet.

§ 94. Gärungsgewerbe. Brauerei. Die Alkoholgärung steht im Dienste der Menschheit, soweit historische und geographische Nachrichten reichen. Die Erfahrung, daß gewisse Nahrungsmittel beim Stehen eine freiwillige Zersetzung erleiden, bei der die Flüssigkeit aufschäumt, „sich hebt“²⁾, gewissermaßen aufkocht³⁾, und aus der ein bis dahin nicht vorhandener Stoff von eigentümlich anregender und berauschender Wirkung entsteht, muß offenbar eine der ältesten gewesen sein, die der Mensch sich zunutze gemacht hat. Je nach der Verschiedenheit der Länder und ihrer Bodenfrüchte und der Geschicklichkeit ihrer Bewohner ist das Erzeugnis der „geistigen“ Gärungen ein äußerlich recht verschiedenes, die entstehenden Stoffe sind aber im wesentlichen dieselben, nämlich Alkohol und Kohlensäure, und die Gärungserreger stets Mikroorganismen der Sproßpilzgruppe. Lange genug hat es gedauert, bis die Erkenntnis, daß die Gärung ein Lebensvorgang sei, sich Bahn gebrochen hat, und die chemischen Verhältnisse genauer bekannt wurden (s. o. § 84). Die praktischen Schlußfolgerungen daraus sind Aufgaben der Gewerbe und einer besonderen Wissenschaft, der Lehre von den Gärungsmikroorganismen⁴⁾, die schon in eigenen Instituten ihre Vertretung findet.

Wir wollen aber doch nicht unterlassen, hier in Kürze die Bedingungen, unter denen die Gärung im großen verläuft, die Störungen,

1) Vgl. auch die Mitteilungen von S l a t o r über die Beeinflussung der Gärgeschwindigkeit durch die Temperatur (a. a. O.)

2) Daher Hefe, levûre.

3) ferverescere, daher fermentum; eine ähnliche Bedeutung soll das hebräische Wort für Wein haben (vgl. D u c l a u x, Microbiologie 1. 1).

4) Vgl. die Lehrbücher von J ö r g e n s e n, K l ö c k e r, L i n d n e r, L a f a r.

denen sie unterliegen kann, und die Mittel zu ihrer Bekämpfung, soweit sie ein allgemeines Interesse haben, zu erörtern.

Dasjenige Gärungsgewerbe, das praktisch am meisten fortgeschritten und theoretisch am besten studiert ist, ist die Bierbrauerei. Es empfiehlt sich deswegen in erster Linie sie als Beispiel heranzuziehen. Wir wissen zwar, daß die alten Deutschen des Tacitus — von den Ägyptern zu schweigen¹⁾ — aus Gerstensaft schon ein Bier brauten, das sie recht trinkbar fanden, wenn der Römer es auch mit schlechtem Wein vergleicht; wir haben ferner Beweise dafür, daß die Brauerei sich die folgenden Jahrhunderte stetig weiter entwickelte, dennoch müssen die Bierverhältnisse noch um 1800 n. Chr. nichts weniger als günstige gewesen sein, denn Klagen über verdorbenes Bier hörte man damals fast allgemein²⁾. Man beherrschte offenbar den Gärungsprozeß noch nicht annähernd in der Weise wie heute. Den seitdem erzielten Fortschritt verdankt man nicht zum wenigsten der Entwicklung der Lehre von den Gärungsorganismen. Welche Faktoren bedingen die Haltbarkeit und die Güte des Bieres? Für unsere Zwecke unterscheiden wir zwischen den chemischen Vorbedingungen der Gärung und der Gärung selbst. Zu den Vorbedingungen gehören: gute Beschaffenheit der Gerste und des daraus gewonnenen Malzes, Güte des Wassers, das zur Bereitung der Würze dient, richtige Führung des Maisch- und Kochprozesses, durch den das Malz verzuckert und ausgelaugt, die Würze gehopft, geklärt und konzentriert wird und schließlich sorgfältige Kühlung der Würze. Damit ist das Rohmaterial gegeben, das der Gärung unterliegen soll. Nehmen wir an, daß es die richtige Zusammensetzung besitze, und betrachten wir die Umwandlung, die es erfahren soll, den Gärungsvorgang selbst. In der gekühlten Würze setzt die Tätigkeit der Mikroorganismen ein. Sie richtig zu leiten, nur die nützlichen Organismen zuzulassen, die schädlichen auszuschließen, darin besteht die Aufgabe. Früher war man weit davon entfernt, diese Aufgabe zu erfassen, man setzte der Würze die Hefe zu, die man aus dem vorhergehenden Brauprozeß gewonnen hatte, ohne sich um ihre Zusammensetzung viel zu kümmern, man beachtete nicht die zahlreichen Wege, auf denen nebenher Mikroorganismen in die Würze hineingelangten, und war deswegen nicht imstande, die Güte des Gebräus und seine Haltbarkeit zu gewähr-

1) E. Hahn, Woch. Brauer. 1898. 433 (zur Urgeschichte des Biers) und Sander (Afrikanische Braukunst) ebd. 1900. 458.

2) Vgl. den Vortrag von Delbrück: „Das deutsche Brauergewerbe an der Jahrhundertswende.“ in der Wochenschr. f. Brauerei 1900. 387.

leisten. **P a s t e u r** ¹⁾ war der erste, der die Notwendigkeit, von vornherein mit reiner Hefe zu arbeiten und unabsichtliche Infektionen zu verhüten, klarstellte, und **Emil Chr. Hansen** (§ 85) schuf etwa gleichzeitig mit **R. Koch**, der ähnliches für die Bakterienuntersuchung leistete, das Hauptmittel dazu, indem er die Kulturhefen **rein zu züchten** und von „wilden“ und „Krankheitshefen“ zu scheiden lehrte. Diese Grundsätze haben sich denn auch in dem Gewerbe mehr und mehr Bahn gebrochen und sich auch da Geltung verschafft, wo man die Vorschläge **Hansens** nicht gerade wörtlich durchführte. Nach **Hansen** kann man von reingezüchteter Hefe nur sprechen, wenn man die einzelnen Hefezellen isoliert und weiter fortpflanzt. Der Ausgangspunkt für **Hansen** war die Beobachtung, daß die Hefezellen, nachdem sie in der Nährflüssigkeit der Aussaatkolben gut durchgeschüttelt worden sind, zu Boden sinken und hier deutliche und gut gesonderte „Hefeflecken“ bilden. Durch Zählung der Hefezellen unter dem Mikroskop und entsprechende Verdünnung der sie enthaltenden Tropfen gelang es ihm, in jedem Kolben nur einen Hefefleck und daraus eine Reinkultur zu erhalten. Später erzielte er ähnliche Kolonien aus einzelnen Zellen in Gelatinetropfen, die er unter dem Mikroskop beobachtete und züchtete.

Delbrück ²⁾ unterscheidet gegenüber diesem künstlichen Verfahren die „natürliche Reinzucht“. Es gelingt nämlich durch Innehaltung bestimmter Bedingungen, eine verunreinigte Hefe im großen so zu züchten, daß sie die verunreinigenden Organismen ganz in den Hintergrund drängt. Zwei Verfahren haben sich hier am besten bewährt. Die wilden Hefen wachsen bei niedrigerer Temperatur besonders gut, können also dadurch ausgeschaltet werden, daß man die gemischte Hefe bei höheren Temperaturen züchtet. Ferner ist die Schichtung der Hefen am Boden des Gärbottichs eine charakteristische, die oberste und unterste pflegen die meisten Verunreinigungen zu enthalten, diese lassen sich also dadurch beseitigen, daß man die mittlere Schicht, die „Kernhefe“, zur Gärung verwendet. Unbewußt hat man diese und andere Verfahren schon früher in der Praxis benutzt, bevor die Notwendigkeit der Reinzucht durch die Theorie begründet war, denn anders erklärt sich kaum die Tatsache, daß es manchen Brauereien schon lange vorher geglückt ist, gleichmäßig gute und beständige Erzeugnisse zu liefern. In das Gebiet der natürlichen Reinzucht gehören auch die Zusätze von Säuren, z. B. Weinsäure, Milchsäure, oder die künstliche Erzeugung einer Milchsäuregärung in dem Hefegut, die

1) *Études sur la bière* 1876.

2) *Wochenschr. f. Brauerei* 1895. Nr. 4 und 30 und 1896.

man namentlich in der Brennerei (§ 96) benutzt, um die Überwucherung mit schädlichen Bakterien hintanzuhalten. Die genannten Säuren, ebenso echte Antiseptika, wie Salizylsäure, Formaldehyd u. a. sollen übrigens nicht nur eine desinfizierende Wirkung auf gewisse schädliche Mikroorganismen, in diesem Falle die Bakterien, ausüben, sondern auch eine reizende, die Gärkraft steigernde Wirkung auf die Hefezellen (§ 55). Sie tun das aber nur in größerer Verdünnung; wendet man sie, wie E f f r o n t die Flußsäure (Fluorammonium), in starker Konzentration an, so ist von einer unmittelbaren Reizwirkung keine Rede, im Gegenteil würde die Hefe dadurch getötet oder mindestens ihr Wachstum gehemmt werden, wenn es nicht gelänge, sie an das Antiseptikum zu g e w ö h n e n. Das ist in der Tat der Fall, man hat es nach E f f r o n t in der Hand, dadurch sehr widerstandsfähige Heferassen zu schaffen und soll zugleich noch einen zweiten Vorteil erringen, nämlich viel gärkräftigere Hefen gewinnen.

Selbstverständlich können alle diese auf der „natürlichen Reinzucht“ beruhenden Methoden, die man vielleicht besser als S e l b s t - r e i n i g u n g d e r H e f e bezeichnet, nur dann auf die Dauer ersprießlich wirken, wenn man sie durch die wirkliche Reinkultur nach H a n s e n beständig überwacht.

Diejenigen Hefen, die sich in der Brauerei bewährt haben, pflegt man „Kulturhefen“ zu nennen. Es gibt sehr zahlreiche Rassen, fast soviel als Brauereien. Wenn man ihre Reinkulturen vergleicht, so findet man meist nur sehr geringe Unterschiede, immerhin sind die Unterschiede, wenn man allein schon die Wirkung ihrer Produkte auf den G e s c h m a c k d e r V e r b r a u c h e r berücksichtigt, nicht wegzuleugnen. Zum guten Teil wird der verschiedene Geschmack allerdings auf der Zusammensetzung der Würze oder Abweichungen in der Führung der Gärung beruhen. Jedenfalls halten die meisten Brauereien an derjenigen Hefe, mit der sie günstige Erfahrungen gemacht zu haben glauben, fest. Einige Unterschiede sind außerdem gewissermaßen mit Händen zu greifen, da sie die äußere Erscheinung des Gärungsvorganges beeinflussen. Hierher gehört die Trennung der Hefen in U n t e r - und O b e r h e f e n. Man nennt bekanntlich Untergärung in der Brauerei diejenige, namentlich bei sogenannten bayrischen Bieren übliche Gärung, die bei 5—10° C verläuft, während die Obergärung der englischen, belgischen, französischen und einiger deutscher Biere, z. B. des Weißbiers, bei 12—25° erfolgt. Bei der letzteren treiben die Schaumblasen dicke Schichten von Hefe an die Oberfläche, bei der Untergärung ist diese Deckschicht niemals dick oder fehlt auch vollständig. Man hielt früher den Temperaturunterschied für das Wesentliche beider Prozesse und glaubte die Unterhefe

in Oberhefe umwandeln zu können und umgekehrt. H a n s e n hat bewiesen, daß dem nicht so ist, sondern daß wir es hier mit Hefeabarten zu tun haben, die ihre Eigenschaften zähe festhalten. Die Unterhefe erzeugt auch bei höherer Temperatur nicht die charakteristischen hefebedeckten Schäume der Oberhefe. Später hat dann namentlich B a u ¹⁾ darauf hingewiesen, daß auch chemische Unterschiede zwischen Ober- und Unterhefe bestehen. Wir haben bei der Übersicht über die Hefepilze (§ 86) gesehen, daß man auf Grund der Verschiedenheiten, die die Kulturhefen in ihrem Gärvermögen gegenüber Dextrin, Melibiose u. a. zeigen, sie in ein System bringen kann.

Auf die Verschiedenheit der Gärprodukte, die sich aus der Zusammensetzung und Konzentration der Würze, der Größe des Hopfenzusatzes usw. erklären, können wir hier natürlich nicht eingehen. Zahlreiche Abarten von Bier entstehen auf solche Weise. Interessanter sind für uns die Biere, die sich dadurch kennzeichnen, daß an ihrer Erzeugung mehrere Kleinwesen beteiligt sind. Ein Beispiel dafür ist das Berliner Weißbier, das seinen Alkohol- und Kohlensäuregehalt einer echten Hefe, seinen säuerlichen Geschmack einem Milchsäurebazillus verdankt. Bis vor kurzem hatte man geglaubt, ein gutes Weißbier könne nur hervorgehen aus einer Würze, die nicht gekocht sei, weil das Kochen die Milchsäurebakterien, die zur Gärung nötig seien, zerstöre, die richtige Gärung lasse sich auch nicht durch Reinkulturen herbeiführen und die Reife erhalte das Bier erst durch die Nachgärung in der Flasche. Es hat sich aber durch Versuche herausgestellt²⁾, daß man es hier im Grunde nur mit Vorurteilen zu tun hat: auch in der Weißbierbrauerei führt der Brauprozess zu einem ebenso guten und dabei haltbaren Erzeugnis, wenn man ihn nicht in der alten roh erfahrungsmäßigen, sondern in der neuen wissenschaftlichen Weise leitet, d. h. die Würze durch Kochen sterilisiert, durch Reinkulturen von Hefe und Milchsäurebakterien³⁾ vergärt und die Gärung im Bottich zu Ende führt. Allerdings sind nicht beliebige Milchsäurebakterien dazu geeignet, mit Hefe in der gewünschten Art zusammen zu arbeiten, es bedarf vielmehr einer gegenseitigen Anpassung, wenn der Erfolg dauernd ein günstiger sein soll. Auch andere obergärige Biere verhalten sich ähnlich (S c h ö n f e l d).

Diese S y m b i o s e der Bakterien und Hefen bei der Weißbierbereitung bringt uns auf die viel erörterte Frage, ob denn nicht in

1) Woch. Brauerei 1894.

2) Vgl. S c h ö n f e l d , Woch. f. Brauerei 1900. 267 und 338; 1901. 237; O. N e u m a n n , ebenda 1900. 581 und 608.

3) Nach H e n n e b e r g , Zeitschr. f. Spiritusind. 1903. 226 wohl nahe verwandt mit den Bakterien des umgeschlagenen Bieres (s. u.).

manchen Fällen statt einer Hefe zwei oder mehrere mit Vorteil zur Gärung benutzt werden könnten. Das scheint in der Tat der Fall zu sein, wenn sich die Hefen gegenseitig in ihrer Wirkung ergänzen. So treten in der englischen obergärigen Brauerei (z. B. Porter) zu denjenigen Hefenrassen, die die **H a u p t g ä r u n g** zu besorgen haben, noch andere, die die **N a c h g ä r u n g** bewirken. Die ersteren vergären nach **L i n d n e r** die verschiedenen Zucker, aber nicht Dextrin, die letzteren vollenden die Gärung, indem sie auch Dextrin vergären¹⁾.

Eine wichtige Tatsache, für die man früher kein Verständnis hatte, hat auch in der Periode, die der Einführung der Reinkultur in die Brauerei gefolgt ist, wenigstens ihre teilweise Erklärung gefunden, nämlich die **V a r i a t i o n** der Hefe, die im Brauereibetriebe stattfinden kann, ohne daß etwa eine Verunreinigung mit anderen Mikroorganismen erfolgt wäre. Ähnliche Abänderungen hat man ja vielfach kennen und experimentell auch bis zu einem gewissen Grade beherrschen gelernt, seitdem man im Laboratorium mit Reinkulturen von Hefe, und Bakterien arbeitet. Allerdings sind die Gründe der Erscheinung, die bald als Rassenverbesserung, bald als -verschlechterung auftreten, im praktischen Betriebe meist noch dunkel. Sie kommen und gehen vorüber, anscheinend ohne Ursache. Den Reinkulturen als solchen sind sie jedenfalls nicht in die Schuhe zu schieben, denn die Beobachtungen stammen, wie gesagt, nicht von heute. Das beste Heilmittel für den Fall, daß eine Brauereihefe „entartet“ ist, besteht auch in der Einführung einer neuen Reinkultur.

Welches sind denn nun die **K r a n k h e i t e n** des **B i e r e s**, vor denen in erster Linie die Einführung der Reinhefe schützen soll? Noch **P a s t e u r** glaubte, daß nur Bakterien als Krankheitserreger in Frage kämen und gab als Mittel dagegen die Behandlung der Hefe mit Weinsäure an. Erst **H a n s e n** zeigte, daß es sehr böse Schädlinge des Bieres gerade unter den wilden Hefen gibt. Selbst Beimengungen von *Sacch. Pastorianus* I, die zur Menge der Kulturhefe im Verhältnis von 1 : 22 stehen, machen sich noch unangenehm bemerkbar durch den bitteren Geschmack und schlechten Geruch, den sie diesem Bier verleihen. Eine Trübung des Bieres in den Flaschen verursacht *Sacch. Pastorianus* III und *Sacch. ellipsoideus* II. Auch andere Forscher haben ähnliche Krankheitshefen beobachtet, darunter z. B. **W i l l**²⁾ eine Kahmhefe (*Sacch. mycoderma*), die obergäriges Bier nicht selten trübt und entfärbt, auch den Geschmack bei starker Infektion ungünstig beeinflußt. Unschuldiger Art dagegen sind nach demselben

1) Vgl. auch § 86 und **L i n d n e r**, mikroskop. Betriebskontrolle.

2) Zeitschr. f. Brauwesen 1900.

Forscher die sogenannten Torulaarten, d. h. kleine runde Hefen, die in der Brauerei allenthalben vorkommen, aber auch bei stärkerer Einsaat in die Würze oder das Bier gegen die Kulturhefe nicht aufkommen können.

Die Angaben über Bakterien im Bier sind älter, so spricht Pasteur von einem Kokkus, der das Bier fadenziehend mache. Lindner fand einen „*Pediococcus* (*Sarcina*) *viscosus*“ als Ursache des Langwerdens von Weißbier, van Laer zwei Bazillen (*B. viscosus* I und II) in schleimig verändertem belgischem Bier, Vandom, Brown und Morris¹⁾ Kokken und Stäbchen ähnlicher Art im englischen Bier.

Auch für das „Umschlagen“ des Bieres, bei dem dieses trübe und sauer wird und unangenehm riecht und schmeckt, hat Pasteur die Ursache entdeckt in einem Bazillus, den van Laer im belgischen Bier wiedergefunden und *Saccharobacillus pastorianus* genannt hat. Davon verschieden, aber in ähnlicher Weise wirksam ist ein anderes Milchsäurebakterium, der *Bac. Lindneri*, aus umgeschlagenem deutschem Lagerbier²⁾.

Während die genannten Arten als Krankheitserreger auftreten, gibt es einige dem *Saccharobacillus Pastorianus* verwandte Bakterien, die absichtlich der Würze zugesetzt werden, um Milchsäure zu entwickeln. Dahin gehören die schon oben erwähnten Bazillen der Weißbierbrauerei und der Brennerei (§ 96).

Trübung und Säuerung verursachen im Bier ferner die Essigbakterien, von denen eine ganze Anzahl beschrieben worden sind, einfache Trübung noch eine Reihe von Sarzinen oder „*Pediococcus*“formen, die namentlich Lindner, Lasché und Schönfeld studiert haben. Freilich kommen die letzteren Organismen sehr häufig in der Würze vor, ohne dem Bier gefährlich zu werden. Ob sie im Bier zum Wachstum kommen oder nicht, scheint von ihrer Menge und ihrer sehr verschiedenen „Virulenz“ abzuhängen.

Wie die meisten Sarzinen verhalten sich auch andere Bakterien, z. B. Heubazillen und Proteusarten (Thermobakterien Lindner). Sie gedeihen in der Würze unter Umständen recht gut, werden aber unterdrückt, sobald die Hefegärung kräftig einsetzt.

Zur Vermeidung der genannten Krankheiten des Bieres dient in erster Linie die Reinkultur der Hefe, hat doch Hansen direkt den Nachweis führen können, daß die am meisten gefährlichen wilden Hefen nur dann zur Wirkung kommen, wenn sie schon in beträchtlicher

1) Zit. nach Klöcker, vgl. auch § 128.

2) Henneberg, Zeitschr. f. Spiritusind. 1903. vgl. Lit. § 97.

Menge und mit der Kulturhefe gleichzeitig in die Würze gelangen. Daneben sind natürlich auch alle übrigen „Infektions“gelegenheiten zu beachten. Die Würze wird häufig schon beim Kühlungsprozeß vor dem Zusatz der Hefe infiziert dadurch, daß sie unreine Rohre passiert, in unsaubere Gärbottiche gelassen wird oder Luftkeime aufnimmt. Später bleibt die letztgenannte Infektionsquelle noch längere Zeit offen und neue kommen dazu, bis das Bier fertig ist zum Verbräuche. Hier ist höchste Sauberkeit, wie der Mediziner sagen würde, ein „a s e p t i s c h e r“ B e t r i e b vonnöten. Die Analogie mit der Prophylaxe der Infektionskrankheiten der Tiere und des Menschen geht noch weiter. Auch bei der Würze kann man von einer D i s p o s i t i o n zur Erkrankung sprechen. Ein zu hoher Stickstoffgehalt des Malzes und sogar des Brauwassers soll¹⁾ z. B. die Haltbarkeit des Bieres beeinträchtigen. Maßgebend dafür ist bekanntlich auch die Innehaltung der richtigen Temperatur bei den einzelnen Brauprozessen und später die niedrige Temperatur beim Lagern und Aufbewahren des Bieres. Wo dieselbe, wie z. B. bei dem für die Tropen bestimmten Exportbier, praktisch nicht durchführbar ist, kann man dem Bier einen (beschränkten) Schutz verleihen, indem man es durch Erhitzen von dem größeren Teil der in ihm noch enthaltenen Keime befreit, d. h. es zwischen 50 und 75° „pasteurisiert“²⁾.

§ 95. Weinbereitung. Die W e i n b e r e i t u n g ist noch nicht in demselben Maße auf wissenschaftlichen Grundsätzen durchgeführt, wie die Brauerei. Das liegt offenbar daran, daß die Natur selbst hier das wesentliche des Prozesses verrichtet, indem sie das Rohmaterial der Gärung, den Traubensaft, in der richtigen Zusammensetzung schon liefert und dazu auch auf den Beeren selbst die Mikroorganismen züchtet, die die Gärung bewerkstelligen. Immerhin zeigt sich mehr und mehr, daß die neuen Lehren, die die moderne Umgestaltung des Brauereigewerbes bewirkt haben, auch nutzbringende Anwendung finden können auf die Weinerzeugung. Die Verwendung rein gezüchteter Hefe hat sich auch hier bewährt, am frühesten bei der Herstellung der O b s t w e i n e und des S c h a u m w e i n e s, sowie bei der U m g ä r u n g, der kranke Weine unterworfen werden, um sie trinkbar zu machen, gewinnt aber auch sonst allmählich an Boden, nachdem die Kinderkrankheiten des Verfahrens überwunden sind. Der Einfluß des künstlichen Hefezusatzes ist dann am größten, wenn der Most vorher sterilisiert (pasteurisiert) wird, und dadurch das unkontrollierbare Hefe- und Bakteriengemisch, das unter natürlichen

1) S. Ref. von M o r i t z in Wochenschr. f. Brauerei 1900. 114.

2) Vgl. in derselben Zeitschrift 1900. 454 und 478.

Verhältnissen die Gärung begleitet, ganz ausgeschaltet wird. Die Wahl der Heferasse ist dabei von entscheidender Wichtigkeit. Allerdings hat M ü l l e r - Thurgau gezeigt, daß man auch mit Hilfe gewöhnlicher Bierhefe oder selbst mit den wilden Hefen, die man aus der Brauerei als Krankheitshefe kennt, Weine erzeugen kann, die normales Bouquet besitzen. Offenbar enthalten die Trauben selbst die nötigen „primären“ Bouquetstoffe. Ebenso sicher ist aber, namentlich durch Arbeiten von W o r t m a n n ¹⁾, festgestellt, daß es Heferassen gibt, die die Fähigkeit besitzen, den Geschmack und Geruch des Weins durch Erzeugung „sekundärer“ Bouquetstoffe zu veredeln. Solche Hefen finden sich unter natürlichen Bedingungen schon auf den Trauben, sie sind es, die die Unterschiede der einzelnen Weinsorten mit bedingen. Man braucht also nur die „Johannisberger“, „Walporzheimer“, „Pisporter“ Hefen zu isolieren, um geeignetes, charakteristisches Material für die Reinzucht zu bekommen. Selbstverständlich ist die Zusammensetzung des Mostes daneben noch von großer Bedeutung, man wird also aus einem minderwertigen Most durch die besten Hefen keinen edlen Wein bekommen. Wie groß indessen der Einfluß der Heferasse, kann man an den sogenannten M a l t o n w e i n e n ²⁾ erkennen. Diese werden in der Weise hergestellt, daß man reines Gerstenmalz, also denselben Rohstoff wie in der Bierbrauerei, aber in stärkerer Konzentration vermaischt, dann einer Milchsäuregärung künstlich unterzieht, um die dem Malze fehlende Säure der Traube zu ersetzen und schließlich durch Südweihenfen zur alkoholischen Gärung bringt. Das Erzeugnis bekommt dadurch in der Tat das Aroma des Portweins, Sherrys usw. Auch das C h a m p a g n e r b o u q u e t ist das Produkt einer Hefe³⁾, die sich auch dadurch kennzeichnet, daß sie die Gärflüssigkeit kaum trübt und sich gut absetzt. Bekanntlich spielen diese beiden Eigenschaften bei der Herstellung des Schaumweins, d. h. bei der auf Flaschen stattfindenden Nachgärung, eine größere, ja die Hauptrolle. Praktisch sehr wichtig ist, daß die Bouquetbildung der reingezüchteten Hefen bald verloren geht, sie müssen daher von den Champagnertrauben immer frisch gezüchtet werden, wenn sie günstig wirken sollen.

Die Benutzung der Reinhefe in der Weinbereitung würde in erster Linie dazu dienen, die Krankheiten des Weins zu verhüten. Solche Krankheiten hat schon P a s t e u r ⁴⁾ auf Bakterien zurückgeführt.

1) Landwirtsch. Jahrb. 1892 u. 1894; vgl. auch § 90 und zahlreiche Angaben in K o c h s Jahresber. 1890—1900

2) Vgl. S a u e r u. a., Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1897.

3) C o r d i e r, K o c h s Jahresber. 1899. 114.

4) Études sur le vin Paris 1866, 2. édition 1873. Neuere Zusammen-

Diese sind auch sicher dabei in erster Linie beteiligt, indessen haben die Untersuchungen darüber noch keineswegs eindeutige Ergebnisse gehabt, da die Impfversuche mit den reingezüchteten Bakterien fast immer mißlingen. Nach H e i n z e kann man etwa folgende durch Mikroorganismen hervorgerufene Veränderungen unterscheiden. Eigentliche Krankheitshefen, wie beim Bier, kennt man nicht, wohl siedeln sich aber bei reichlichem Luftzutritt zum Wein häufig K a h m h e f e n (*Sacch. mycoderma*) auf diesem an und schädigen ihn dadurch, daß sie den Alkoholgehalt herabsetzen, auch den Geschmack ungünstig beeinflussen¹⁾. Allein für sich oder mit K ahmhefe zusammen verursachen die E s s i g b a k t e r i e n den sogenannten „Stich“ des Weines, besonders wieder bei ungehindertem Luftzutritt und unter Einwirkung höherer Temperaturen. Viel größer ist aber der Schaden, wenn sich zu ihnen noch Fäulnisbakterien gesellen, die von den toten Hefezellen und den stickstoffhaltigen Bestandteilen des Wassers leben und den „Mausgeschmack“, das „Mäuseln“ des Weines oder den „Hefeabgeschmack“ erzeugen. Welcher von den zahlreichen bekannten M i l c h s ä u r e b a k t e r i e n den Milchsäurestich oder das „Zickendwerden“ des Weines bedingen, ist noch nicht bekannt, erst seit kürzerem studiert die M a n n i t g ä r u n g des Weines, die von G a y o n und D u b o u r g auf den Mannitbazillus zurückgeführt wird. Den interessanten Reduktionsprozeß, der dabei in Erscheinung tritt, besprechen wir an anderer Stelle (§ 124, 125).

Nach L a b o r d e²⁾ sind die fadenbildenden Bakterien, die schon P a s t e u r als Erreger der „pousse“ oder „tourne du vin“ angesehen, leicht zu kultivieren und zeigen sich nahe verwandt dem *Bac. manniticus*. In Wein eingesät erzeugen sie allmählich aus der Weinsäure (?) größere Mengen flüchtiger Säuren (viel Essigsäure mit weniger Propionsäure).

Unter dem Sammelnamen des „Umschlagens“ oder „Brechens“ der Weine meint man aber meist M i s c h i n f e k t i o n e n, durch die Weine trübe und ölig oder schleimig werden, sich braun färben und widerwärtigen Geschmack annehmen. Beschrieben sind als Schleimbildner im Wein besonders von K r a m e r Bakterien (*Bac. viscosus vini*), von M e i ß n e r Hefen (*Sacch. viscosus*). — Das „Bitterwerden“ des Rotweines schrieben P a s t e u r und nach ihm andere

stellung über die Krankheiten des Weins bei H e i n z e, Hygien. Rundschau 1901, Nr. 7 und 8 mit Lit.

1) Vgl. über die K ahmhefe des Weines auch H e i n z e, Landwirtschaftl. Jahrb. 1901.

2) Compt. rend. 138. 228, vgl. § 124 u. D u c l a u x § 147.

Forscher, zuletzt noch B o r d a s , J o u l i n und R a c z k o w s k i ¹⁾ Bakterien zu. Nach den umfangreichen Feststellungen W o r t m a n n s ²⁾ liegt dazu kein Grund vor, vielmehr scheinen Schimmelpilze (wie Botrytis, Penicillium), die teils schon auf den Beeren, teils im Fasse angesiedelt sind, aus der Gerbsäure des Weines die Bitterstoffe zu entwickeln. Schimmelpilze sind es auch, die einen äußerst unangenehmen Schimmelgeruch und -geschmack im Weine erzeugen können. Ebendahin gehört wohl wenigstens teilweise der „Stopfengeschmack“ der Flaschenweine³⁾. Der „Boden“- oder „Erd“geschmack mancher Weine ist das gemeinsame Produkt der wilden Hefen (Sacch. apiculatus) und Schimmelpilze.

Die Schimmelpilze, insbesondere Botrytis cinerea und Penicillium glaucum haben auch insofern eine Bedeutung für die Weinbereitung, als sie bei reichlicher Einsaat die Gärung des Mostes verlangsamen. Nach B e h r e n s ⁴⁾ sind Giftstoffe, die sie erzeugen, daran schuld. Auf der anderen Seite ist die Botrytis cinerea bekanntlich auch von Nutzen, da sie die Ursache der „Edelfäule“ des Weines ist⁵⁾.

Auch in den ältesten und gesündesten Flaschenweinen kommen nach W o r t m a n n regelmäßig Mikroorganismen vor, besonders Hefen, aber auch Bakterien. Diese echten Weinhefen sind es, die wahrscheinlich den Ausbau des Weines in der Flasche besorgen. Was den Säureverlust anlangt, der in jungen und alten Weinen sich mehr oder weniger stark bemerkbar macht, so wird er verschieden erklärt: neben der physikalischen Wirkung der Weinsteinabscheidung werden von S c h u k o w , W o r t m a n n u. a. noch die Hefepilze verantwortlich gemacht⁶⁾, von K u l i s c h und A. K o c h ⁷⁾ aber spezifische Bakterien, die die Äpfelsäure des Weins verzehren. Wenn ungleiche Säuremengen in den Weinen, z. B. mehr Säure in den Moselweinen, zurückbleiben, so wäre das nach K o c h darin begründet, daß die säureverzehrenden Bakterien in dem einen Weine besser als in den

1) Vgl. K o c h s Jahresber. 1898. 147. Impfungen mit ihrem Bazillus sollen in sterilisiertem Wein die Krankheit erzeugt haben. Die Beschreibung des Bakteriums ist sehr unvollständig.

2) Landwirtschaftl. Jahrb. 1900.

3) Ebd. 1898. 631.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 638.

5) M ü l l e r - Thurgau, Landwirtsch. Jahrb. 1888.

6) Vgl. H e i n z e , Zeitschr. f. Hyg. 46. 324.

7) K o c h s Jahresber. 1897—1900. Vgl. auch den Microc. malolacticus von S e i f e r t , ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 664, und die „Kahmhefen“ M e i ß n e r s (Landwirtsch. Jahrb. 1901), die je nach Umständen Säure entwickeln oder verzehren. Bei freiem Luftzutritt überwiegt die Säurezerstörung.

anderen fortkommen. Diese wie andere Einzelheiten der Weinbereitung, der Einfluß der Temperatur, des Luftsauerstoffs, verdienen noch gründlichere Bearbeitung. An Widersprüchen fehlt es nicht. So ist es zwar verständlich, daß der Wein bei der Reifung, die ja wohl im wesentlichen als ein Lebensprozeß zu deuten ist, einer nicht zu niederen Temperatur ausgesetzt werden darf, warum er aber, nachdem er die volle Reife erlangt, nicht bei der niedersten für die Konservierung geeigneten Temperatur gehalten werden soll, ist nicht recht verständlich. Etwas klarer sind die Vorschriften über den Sauerstoffzutritt zum Wein. Im allgemeinen wird bei der Lagerung des Weins die Luft streng abgeschlossen, weil dadurch nicht nur die Infektion, sondern vor allem auch das Wachstum der schon im Wein befindlichen sauerstoffliebenden Kahlhefe und Essigbakterien begünstigt wird; bei dem wiederholten Umstechen in andere Fässer soll dagegen die Lüftung eine vollkommene sein, damit die Organismen, denen der weitere Ausbau des Weines obliegt, nun zur Tätigkeit angeregt werden. Je reifer der Wein wird, desto weniger nötig ist die Lüftung und soll bei der Füllung in Flaschen überhaupt unterbleiben.

Das sicherste Mittel gegen das Auftreten von Krankheitserregern im Wein ist die Einführung der Hefereinkultur, aber schon die saubere und sorgfältige Kellerbehandlung kann viel leisten. Ist die Krankheit einmal ausgebrochen, so kommen als Heilmittel mannigfache Verfahren in Frage, das Schönen durch niederschlagende Substanzen (Hausenblase), das Durchschütteln mit absorbierenden Stoffen (Holzkohle, Olivenöl), das Filtrieren und Pasteurisieren. In manchen Fällen kann die fehlerhafte Gärung ausgeglichen werden durch eine Nachgärung mit Reinhefe.

§ 96. Branntweinbrennerei. Das dritte Gärungsgewerbe, die Brennerei, bietet für uns wenig interessante Dinge, die nicht schon bei der Brauerei Besprechung gefunden hätten. Besonders wichtig geworden und vergleichbar dem oben geschilderten Verfahren bei der Weißbierbrauerei ist die Benutzung von Reinkulturen der langen Milchsäurebazillen (*L a f a r*) zur Herstellung des sog. Hefegutes, d. h. der Vorkultur der Hefe, mit der die Brennereimaische geimpft wird. Die Milchsäurebazillen dienen hier freilich nicht zur Erzeugung eines bestimmten Geschmacks, sondern nur zur Sicherung und Förderung des Hefewachstums (vgl. § 111).

Vielleicht steht dem Brennereibetriebe eine weitere Umwälzung bevor durch Einführung der Pilzdiastase an Stelle des Gerstenmalzes. Viele Schimmelpilze sind nämlich imstande, starke diastatische Fermente zu bilden. So werden in asiatischen Ländern *M u c o r* - und

*Aspergillus*arten²⁾ im weitesten Umfange zur Verzuckerung des Reises als Vorbereitung der alkoholischen Gärung benutzt. Die „chinesische Hefe“ kommt nach *Calmette* in den Handel in Gestalt kleiner grauer Kuchen, die aus allerhand aromatischen Drogen und Reismehl gemischt sind und die Sporen des *Mucor* (*Amylomyces*) *Rouxii* neben Hefe und Bakterien enthalten. Gekochter Reis wird mit einem Pulver dieser Hefe bestreut und überzieht sich bald mit dem Myzel des genannten Pilzes, der die Stärke in Dextrin und Zucker überführt. Die Hefe vergärt dann den Zucker zu Alkohol. *Wehmer* gibt eine ähnliche Beschreibung von dem auf dem malayischen Archipel als Vergärungsmittel benutzten „Ragi“, das den *Mucor javanicus* als wirksamen Bestandteil enthält. Auch der in Ost- und Mittelasien als Genußmittel weit verbreitete Reiswein, der, weil er sehr viel Alkohol enthält und heiß getrunken wird, besser Reispunsch zu nennen ist, der „Saké“ der Japaner, wird nach *Kellner* u. a. in der gleichen Weise hergestellt, nur daß hier als Diastase der *Aspergillus oryzae* dient. Derselbe Pilz wird auch benutzt zur Fabrikation der Soja, einer Art Sauce aus Bohnen und Weizen, die durch einen viele Monate und Jahre lang dauernden langsamen Gärungsprozeß gewonnen wird, ebenso wird das Miso, ein steifer Brei aus Bohnen, Reis oder Gerste, der in der Ernährung der niederen Klassen in Japan eine Rolle spielt, erzeugt. Neuerdings hat man die genannten Pilze auch in Europa eingeführt als Ersatz des Malzes in Brennereien.

§ 96a. Aus Mischgärungen hervorgehende Genußmittel. Die letztgenannten Produkte leiten zu anderen Nahrungs- und Genußmitteln hinüber, bei deren Herstellung neben der Alkoholgärung noch saure Gärungsprozesse mehr oder weniger im Vordergrund stehen: außer dem schon § 94 genannten Berliner Weißbier wäre hier das Brüsseler Lambic und Krickenbier, der englischen Ingwerwein, das Hirsebier der Neger (*Pombe* in Ostafrika), der russische Kwas, der Sauerteig des Brotes aller Völker, das deutsche Sauerkraut, der tatarische Kumys, der kaukasische Kefyr, der armenische Mazun, das ägyptische Leben zu nennen. Der letzteren aus Milch bereiteten Getränke wurde schon gedacht bei der Hydrolyse des Milchzuckers (§ 82), von ihnen und den übrigen wird noch weiter die Rede sein bei der Milchsäuregärung (§ 111).

§ 97. Milchsäure- und gemischte saure Gärungen. Obwohl das Sauerwerden der Milch derjenige Gärvorgang ist, der den Menschen am frühesten bekannt werden mußte, hat man seine wahre Natur erst sehr spät erkannt. *Erxleben* zählt ihn z. B. noch im Jahre 1784

1) Vgl. Lit. S. 218.

in seinen „Anfangsgründen der Chemie“ nicht einmal zu den eigentlichen Gärungen. Um diese Zeit wurde erst durch *Scheele* die Entdeckung gemacht, daß die Milchsäure eine Säure besonderer Art ist. Auch als später durch *Cagniard-Latour*, *Schwann* und namentlich *Kützing* die Gärungen als Äußerungen kleinster Lebewesen erkannt waren, wurde diese Vorstellung noch nicht auf die Milchsäuregärung übertragen. Teilweise war schuld daran die Tatsache, daß die Milchsäurebakterien dem bewaffneten Auge nicht so auffallen, wie die Hefe im Biere, die „Mutter“ im Essig, die „Infusorien“ der Fäulnis. Außerdem war der Beweis, daß auch die Milchsäuregärung auf lebende Erreger zurückzuführen sei, nicht so leicht zu führen. Mußten doch alle Forscher, die sich mit den Zersetzungen der Milch beschäftigten, die Beobachtung machen, daß das Kochen durchaus kein sicheres Mittel ist, um diese zu verhindern¹⁾. Erst *Pasteur*²⁾ hat seit 1857 diese letzteren Schwierigkeiten überwinden gelehrt. Er machte durch Erhitzung auf über 100° unter Druck die Milch auf die Dauer keimfrei, beschrieb übrigens auch schon unter dem Namen der Milchsäurehefe ein Bakterium, das eine Milchgärung verursacht. Die Reinzüchtung der Milchsäurebakterien gelang aber erst viel später. In ziemlich reinem Zustand in Händen gehabt hat sie schon *Lister*³⁾, doch konnte seine Methode — die Züchtung in flüssigen Nährmedien —, keine sichere Gewähr bieten. Selbst *Hüppe*⁴⁾, der zuerst die *Koch*sche Methode der Reinkultur auf festen Nährböden auf die Untersuchung der Milch anwandte, hatte insofern kein Glück, als es ihm nicht gelang, den gewöhnlichen Erreger der Milchsäuregärung zu isolieren. Sein *Bac. acidi lactici* ist, wie später festgestellt wurde, ein zwar leichter züchtbarer, aber nur verhältnismäßig seltener und nebensächlicher Begleiter der Milchsäuregärung, der mit dem von *Escherich* beschriebenen *Bact. (lactis) aërogenes* aus dem Milchkot der Säuglinge identisch ist. Von den meisten späteren Forschern wurden die *Hüppeschen* Ergebnisse ohne weiteres übernommen, es kam dadurch zu einer bösen Verwirrung, die sich nicht bloß auf die Namen und die Beschreibung der Milchsäureerreger, sondern auf die Auffassung der Gärung selbst erstreckte. Zunächst war es ein großer Fortschritt, als *Leichmann*, sowie *Güntner*

1) Vgl. z. B. *Schröder* und von *Dusch*, *Liebigs Annal.* 89 und 99 (1854 und 1859).

2) *Compt. rend.* 45. 913; 47. 224; 48. 337 und 1149; 50. 849 und *Ann. chim. et phys.* 64, 1862, p. 58.

3) *Transactions of the Pathol. Soc. London* 1878.

4) *Mitt. K. Gesundheitsamt* 2, 1884.

und **T h i e r f e l d e r**¹⁾ die wirklichen Erreger der gewöhnlichen Milchsäuregärung isolierten und ziemlich richtig beschrieben. Die letzteren Forscher identifizierten leider selbst ihre Bakterien mit den **H ü p p e**-schen. **Leichmann**²⁾ erkannte zwar die Verschiedenheit seiner Bakterien von dem *Bac. acidi lactici* **H ü p p e**s, hatte aber die unglückliche Idee, sie als *Bacterium lactis acidi* zu bezeichnen. Die Verwirrung wurde noch gesteigert, als etwa gleichzeitig **Lehmann** und **Neumann** in ihrem Grundriß der Bakteriologie (1896) das neue Bakterium als *Bact. Güntheri*, und ich selbst in der 3. Auflage der **F l ü g g e**-schen Mikroorganismen als *Bacillus lacticus* benannten, ferner **Leichmann**³⁾ einen auf den ersten Blick gänzlich verschiedenen Mikroorganismus, der auch Milchsäuregärung erzeugt — den langen Milchsäurebacillus (s. u.) — als *Bacillus lactis acidi* bezeichnete. Daneben haben eine ganze Anzahl von Forschern noch Kokken als *Mikrokokkus*, *Streptokokkus*, *Bacillus acidi paralactici*, *Micrococcus lactis acidi*, *Micrococcus ovalis*, *Enterococcus*, *Lactococcus* usw. als besondere Bakterien beschrieben, die Milchsäuregärung erzeugen.

Diese Verwirrung hat den Verfasser zu eigenen Untersuchungen über die Milchsäuregärung⁴⁾ veranlaßt. Ihr Ergebnis ist ebenso überraschend als erfreulich: die meisten der genannten Mikroorganismen sind in den wesentlichen Eigenschaften miteinander identisch, die früher als Bazillen aufgeführten verdienen diesen Namen nicht, sondern sind echte Streptokokken, die den lanzettförmigen Pneumoniokokken ihrer Gestalt nach meist sehr ähnlich sind, im übrigen aber viele Abarten bilden. Man könnte sie am besten als *Streptococcus lacticus*⁵⁾ zusammenfassen. Wenn hierdurch eine Ver-

1) 'Arch. f. Hyg. 25. 1895.

2) Milchzeitung 1894.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 777.

4) **K r u s e**, Zentralbl. Bakt. 34, 1903. Vgl. auch **H ö l l i n g s** medizinische Dissertation, Bonn 1904.

5) **Lehmann** und **Neumann** nennen sie in der 3. Auflage ihres Grundrisses aus Prioritätsgründen *Strept. Güntheri*. Der Name ist mindestens unpraktisch. Vgl. auch **W e i g m a n n** in **L a f a r s** Handb. 2 (Lit.) und **L ö h n i s**, Zentr. Bakt. 2. Abt. 18. 100, Zeile 15. Noch weniger empfehlenswert ist es natürlich, mit **B e i j e r i n c k** (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1902. 531) den *Strept. lacticus* als „*Lactococcus*“ zu bezeichnen. Wieder aus Prioritätsgründen wählen **Lehmann** und **Neumann** in der 4. Auflage (1907) den Namen *Strept. acidi lactici* und **L ö h n i s** geht mit seinem *Strept. lactis* sogar auf **Lister** zurück (Zentr. Bakt. 2. Abt. 22. 253, 1909). Wenn man durchaus aus diese recht zweifelhaften Prioritätsansprüche den Hauptwert legen wollte, so käme noch der *Strept. (Micr.) ovalis* **E s c h e r i c h s** (1886) in Betracht. Unverständlich ist es,

einfachung erzielt ist, so bleibt trotzdem die Tatsache bestehen, daß es außer den gewöhnlichen Milchsäurebakterien noch eine große Anzahl sicher von ihnen verschiedener Bakterien gibt, die ebenfalls Milchsäuregärung zu erzeugen imstande sind. Dazu gehört in erster Linie außer dem H ü p p e - E s c h e r i c h s c h e n B a c. (Bact.) a e r o g e n e s ¹⁾, der oben erwähnte *Bacillus lactis acidii* L e i c h m a n n s, der wahrscheinlich dem in Brennerreimaischen sehr verbreiteten *Bac. acidificus longissimus* L a f a r s ²⁾, dem *Bac. Delbrückii* L e i c h m a n n s ³⁾ und anderen „langen“ Milchsäurebazillen⁴⁾ sehr nahe steht und schließlich die von G o r i n i ⁵⁾ als Säure-L a b - b i l d n e r zusammengefaßten verflüssigenden Milchbakterien. Wir hätten damit vier Hauptgruppen von Milchsäurebildnern⁶⁾.

Die erste Gruppe des *Streptococcus lacticus* charakterisiert sich durch ihre Streptokokkennatur, d. h. Auftreten in Form von Diplokokken und Ketten verschiedener Länge, Gramfestigkeit, verhältnismäßig spärliches, auch unter Sauerstoffabschluß ziemlich gleichmäßiges Wachstum, den Mangel des Peptonisierungsvermögens. Hierher gehören außer den gewöhnlichen Streptokokken der Milch (*Str. lacticus*) auch die beiden parasitischen Streptokokkenarten, der *Streptococcus lanceolatus* (Pneumokokkus), und der *Streptococcus pyogenes*, sowie der zwischen ihnen stehende *Enterokokkus* der französischen Forscher (Thiercelin), d. h. die gemeinen Darmstreptokokken⁷⁾. Eine scharfe Trennung der drei Hauptarten von Streptokokken, des *Strept. pyogenes*, *lanceolatus* und *lacticus* ist nicht möglich, da alle Übergänge zwischen ihnen unter natürlichen Bedingungen vorkommen, und auch ihre Variabilität

wie L. M ü l l e r (Zentr. Bakt. 2. Abt. 17, 1907) und A. W o l f f (ebenda. 24, 1909) immer noch von einem „Bakterium“ — letzterer schlägt *Bact. Leichmanni* vor — sprechen können, obwohl der erstere doch selbst die schönsten Beweise für die enge Verwandtschaft mit Streptokokken erbracht hat.

1) *Aërobacter Beijerinck*, *Bact. acidii lactici* L e h m a n n - N e u m a n n (1907).

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 194, 1896; 7. 871.

3) Ebenda 2. 281 Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1896. 305.

4) *Lactobacillus Beijerinck*.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 137, 1902.

6) Auch L ö h n i s (Zentr. Bakt. 2. Abt. 18. 97) kommt zu einer ähnlichen Einteilung, wenn er die Gruppen auch etwas anders benennt. Man vergleiche die dort gegebenen Beschreibungen mit Lit.

7) Vgl. bei K r u s e.

unter künstlichen Bedingungen sehr erheblich ist. Das hindert nicht, daß ihre typischen Vertreter sich gut unterscheiden lassen. Auch Übergänge zu den anderen Gruppen kommen vor, so gibt es verflüssigende, labbildende Streptokokken (s. 4. Gruppe), gramnegative Streptokokken und grampositive kurze Bazillen, die sich sonst durch ihre Eigenschaften der dritten Gruppe (des Aërogenes) nähern. Schließlich ist die stammesgeschichtliche Verwandtschaft der Streptokokken und langen Milchsäurebazillen (s. 2. Gruppe) nicht zu verkennen (§ 359) und es werden sich wohl Zwischenglieder zwischen beiden auffinden lassen. Das Säurebildungsvermögen wechselt sehr bedeutend, namentlich auch ihr Verhalten zu den einzelnen Zuckerarten (vgl. § 100). Der typische Strept. lacticus kommt nicht nur in Milch, sondern auch in anderen pflanzlichen Stoffen (§ 111), z. B. in Gras, Sauerkraut, sauren Rübenschnitteln¹⁾ und im Darmkanal (s. o. Enterokokkus) sehr gewöhnlich vor. Soweit Gasbildung (bei Sauerstoffabschluß) überhaupt beobachtet wird, handelt es sich nur um Kohlensäure.

Die zweite Gruppe, die wir die langen Milchsäurebazillen (am liebsten würden wir jetzt sagen *Bacillus lacticus*) nennen wollen, umfaßt grampositive, fakultativ anaërobe, nicht verflüssigende und nicht sporenbildende schlanke, oft faden- oder kettenbildende Bazillen. Auch sie scheinen wie der *Streptococcus lacticus* zahlreiche Abarten zu bilden und sehr verbreitet zu sein, sind aber bei uns seltener in Milch als in den anderen der sauren Gärung verfallenen Stoffen pflanzlichen Ursprunges, wie namentlich der Brennereimaische, dem Weißbier und umgeschlagenen Bier (*Saccharobac. pastorianus*, *Bac. Lindneri Henneberg*²⁾) zu finden. Nach neueren Forschungen spielen sie allerdings auch in manchen ausländischen Milcherzeugnissen, z. B. dem kaukasischen Kefyr (*Bacillus caucasicus* von Freudenreich³⁾), *Lactobacillus caucasicus* Beijerinck⁴⁾), dem armenischen Mazun (*Bakterium Mazun* Weigmann, Gruber und Huß⁵⁾), dem ägyptischen Leben (*Bacillus Lebenis*, *Streptobacillus lebenis* R i s t

1) Hier zum Teil unter besonderem Namen beschrieben. Vgl. *Bact. brassicae* W e h m e r, *Bact. pabuli acidi* bei W e i ß, Göttinger phil. Dissertation 1898. Dahin gehört auch der *Strept. casei*. Der *Strept. hollandicus* (*Bact. lactis longi*) zeichnet sich durch Schleimbildung aus (§ 128). Über *Bact.* und *Bac. acidi propionici* vgl. § 109 u. 142.

2) Zeitschr. f. Spiritusind. 1903. 226 vgl. hierzu und zu dem folgenden die Abschnitte über Gärungsgewerbe § 94, 95, 96, 111 u. 178.

3) Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz 1896.

4) Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1902. 533.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 19. 78.

und K h o u r y ¹⁾), dem bulgarischen oder türkischen Yoghurt (*Bac. bulgaricus* M e t s c h n i k o f f ²⁾) eine Hauptrolle als Säurebildner. Ebenfalls hierher gehören anscheinend die Käsebakterien *Bac. casei* α , γ , ϵ (v o n F r e u d e n r e i c h ³⁾) und *Bacterium casei* I—III (L e i c h m a n n und B a z a r e w s k i ⁴⁾). Die auf Schleimhäuten (Magen, Darm, Scheide) der Säugetiere und Menschen regelmäßig schmarotzenden *Bac. acidophilus* (M o r o), der *Bac. bifidus* (T i s s i e r), die B o a s - O p p l e r s c h e n „langen Milchsäurebazillen“ des Magens (*Bact. gastrophilum*, L e h m a n n und N e u m a n n ⁵⁾), der *Bacillus vaginalis* D ö d e r l e i n s ⁶⁾ haben ebenfalls mehr oder weniger große Verwandtschaft zueinander und zu dieser Gruppe. Auch hier zeigen sich aber große Unterschiede im Gärvermögen sowohl dem Grade nach als in dem Verhalten gegenüber den einzelnen Zuckerarten (§ 100). Ebenso ist das Sauerstoffbedürfnis nicht überall gleich. Der *Bac. bifidus* gehört z. B. zu den strengen Anaëroben. Ebenso ist das Temperaturbedürfnis verschieden. Ein großer Teil der langen Bazillen zeichnet sich vor den Milchsäurestreptokokken dadurch aus, daß er bei Temperaturen von 40 bis 50° am besten gedeiht, andere lieben wieder niedrigere Temperaturen. Gasbildung findet gewöhnlich nicht statt, doch erwähnt z. B. B e i j e r i n c k solche für seinen *Lactobacillus fermentum*. Jedenfalls handelt es sich wie bei den Streptokokken nur um Kohlensäure (§ 104). Nach B e i j e r i n c k u. a. bilden die langen Milchsäurebazillen ferner mehr oder weniger reichlich Mannit aus Lävulose (§ 124 ff.).

Manche Zweifel bestehen noch über das Verhalten dieser Bakteriengruppe (sowie übrigens auch der Streptokokken) zu dem Eiweiß. Nach v o n F r e u d e n r e i c h würden die Käsebazillen, obwohl sie nicht imstande sind, die Gelatine zu verflüssigen, das Pepton stark angreifen und so zu der Käsereifung (§ 178) beitragen, nach B e r t r a n d und W e i s w e i l l e r ⁷⁾ soll auch der *Bac. bulgaricus* Kasein lösen, nach

1) Annal. Pasteur 1902, vgl. S e v e r i n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 22. 3, 1908.

2) Lit. darüber bei L u e r s s e n und K ü h n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 20. 234, 1908; K l o t z und K u n t z e ebenda 21, S e v e r i n ebenda 22. Es kommen Varietäten vor.

3) Landwirtsch. Jahrb. der Schweiz 1894—99; v o n F r e u d e n r e i c h und T h ö n y ebenda 1904.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 245, 1900.

5) Atlas und Grundriß der Bakt. 3. Aufl. 1904, vgl. auch H e n n e b e r g a. a. O. und S a n d b e r g, Z. klin. Mediz. 51, 1903.

6) Nach eigenen Untersuchungen und den Arbeiten v o n R o d e l l a (Zentr. Bakt. 1. Abt. 47. 445), K u n t z e (Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 737) u. a.

7) Annal. Pasteur 1906.

Sick¹⁾ und Rodella²⁾ der *Bac. acidophilus* sogar die Milchsäure aus dem Eiweiß bilden. Wenn sich das als richtig herausstellte, würde sich auf den ersten Blick ein tiefgehender Gegensatz zwischen dem *Acidophilus* und den übrigen Bakterien, die sicher die Milchsäure aus Kohlehydraten erzeugen, ergeben. Indessen liegen auch sonst Erfahrungen vor, die für eine gleichzeitige Entwicklung von Milchsäure aus Zucker und Eiweiß sprechen³⁾.

Die dritte Gruppe des *Bacillus aërogenes* umfaßt auch die gewöhnlichen Darmbewohner *Bac. coli communis* sowie deren beider Verwandte, nämlich einerseits die *Bac. pneumoniae* (Friedländer), *ozaenae*, *rhinoscleromatis*, *dysenteriae*, *pseudodysenteriae*, andererseits die *Bac. paratyphi*, *typhi*. Es sind teils unbewegliche, teils bewegliche, gramnegative, Gelatine nicht verflüssigende und nicht sporenbildende Bazillen, die im übrigen erhebliche Unterschiede zeigen und nur zum Teil, wie der *Bac. aërogenes* selbst, den Zucker unter Gasbildung (Kohlensäure und Wasserstoff) zersetzen. Vielfach, bei den pathogenen gewöhnlich, bleibt gerade der Milchzucker von ihnen unberührt (§ 100), und bei den pathogenen fehlt auch oft die Gasbildung. Die Milchsäure tritt häufig hinter den anderen Erzeugnissen zurück, ist übrigens noch nicht überall unter den sauren Produkten ausdrücklich festgestellt worden.

Die vierte und letzte Gruppe, die der Säurelabbildner Gorinis, ist die am wenigsten natürliche. In der Tat umfaßt sie verflüssigende Streptokokken, z. B. den *Streptoc. coli gracilis* Escherichs, einen Streptokokkus aus Cheddarkäse (Bockhout und de Vries⁴⁾) und aus Bienen-Sauerbrut (Burri, L. Müller⁵⁾), den *Staphylococcus pyogenes*, *Micr. acidi lactici* Krüger⁶⁾, *Micr. acidi paralactici liquefaciens* Halensis Kozai⁷⁾ und ähnliche von Gorini, von Freudenreich usw. beschriebene Formen, Sarzinen aus Käse (Adametz⁸⁾) und alkoholischen Flüssigkeiten (Lindner⁹⁾, Saito¹⁰⁾), Bazillen aus den verschiedensten Abteilungen, z. B. *Bac. cloacae*, *Proteus vulgaris*, *prodigiosus*, vielleicht

1) Deutsch. Arch. f. klin. Med. 86, 1906.

2) S. Anm. 6) auf S. 288.

3) Vgl. § 168 u. 174.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 587, 1904.

5) Ebenda 17. 640, 1907.

6) Zentr. Bakt. 1. Abt. 7. 19. 1890.

7) Zeitschr. f. Hyg. 31 und 38.

8) Landwirtsch. Jahrb. 18. 89. 250.

9) Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1887. 369 „*Pediococcus acidi lactici*“ aus Brennereimaische, vgl. H e n n e b e r g ebenda 1901. 371 und 1903. 226.

10) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 20.

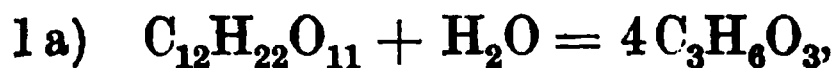
auch Heubazillen und ähnliche aërobe Sporenbildner¹⁾, ferner außer den Buttersäurebazillen auch andere Anaërobier, wie den Bac. des malignen Ödems (§ 113), Spirillen der Cholera und Verwandte²⁾. Die Übergänge zu den früheren Gruppen, z. B. durch die verflüssigenden Streptokokken und den Bac. cloacae zum Streptococcus lacticus und Bac. aërogenes liegen auf der Hand. Soweit es sich hier um strenge Aërobier handelt, bleibt freilich die Milchsäurebildung in engen Grenzen und ist in ihrem Ursprung auch noch wenig studiert.

Sieht man sich diese Übersicht an, so bemerkt man, daß kaum eine der bekannten Bakteriengruppen der Fähigkeit, Milchsäure zu erzeugen, völlig entbehrt. Nur scheinbar fehlt sie vielleicht gewöhnlich den Strahlenpilzen³⁾ und echten Pilzen wie auch der Hefe. Denn die Entdeckung von A h r e n s , E. B u c h n e r und M e i s e n h e i m e r (§ 90), daß die Zymasegärung unter Bildung von Milchsäure, die Gärung lebender Hefe ohne solche erfolgt, ist möglicherweise dahin zu deuten, daß die Milchsäuregärung hier nur intrazellulär vor sich geht, ähnlich wie etwa die hydrolytische Spaltung des Rohrzuckers durch Monilia candida (S. 235). Daß die Milchsäuregärung sogar eine allgemeine Eigenschaft des Protoplasmas ist, könnte man aus den neueren Erfahrungen, die S t o k l a s a ⁴⁾ u. a. beim Studium der Organsäfte höherer Tiere und Pflanzen gemacht haben, folgern.

§ 98. Verschiedene Arten der sauren Gärung. Wie wir gesehen haben, daß die alkoholische Gärung der Hefe ein im wesentlichen chemisch einheitlicher⁵⁾ Vorgang ist, gibt es auch einzelne Bakterienarten (Streptokokken und lange Bazillen, s. u. § 99), die den Zucker nach der Formel



d. h. ein Molekül Traubenzucker in zwei Moleküle Milchsäure, oder, wie man es in der Milch beobachtet, nach der Formel



1) Vgl. bei der anaëroben Essigsäuregärung (§ 103), der Vergärung des Glycerins (§ 131) der Milchsäure (§ 142), der Schleimgärung (§ 128).

2) Beispiele s. S. 307 u. 308.

3) Der Diphtheriebazillus, der den Aktinomyzeten nahesteht, bildet aber Milchsäure (§ 102), der Bac. tuberculosis humanae wenigstens aus Glycerin Säure (Th. S m i t h , Journ. med. research. 1905).

4) Vgl. § 101.

5) Betrachtet man die alkoholische Gärung im allgemeinen, d. h. schließt man auch die durch Bakterien verursachte ein, so ergeben sich freilich verwickelte Verhältnisse vgl. § 104.

6) Über die eigentümlichen Wärmeverhältnisse der Milchsäuregärung vgl. § 237 und S. 293 in diesem Paragraphen.

d. h. ein Molekül Milchzucker unter Wasseraufnahme in 4 Moleküle Milchsäure spalten. Häufig verläuft der Prozeß aber nicht so einfach, sondern es werden daneben mehr oder weniger große Mengen Essigsäure, Alkohol, Kohlensäure, Wasserstoff oder auch Bernsteinsäure, Ameisensäure, Propionsäure, Glyzerin, ja zum Teil Buttersäure, Mannit, Gummi, Schleim gebildet. Nicht genug damit, die Milchsäure selbst kann verschiedene (Rechts-, Links-, inaktive Milchsäure) Konfigurationen besitzen, die einzelnen Zuckerarten können verschieden gespalten werden, die Gärungen auch, je nach den sonstigen Ernährungsbedingungen und dem Zeitpunkte, in dem man sie untersucht, verschiedene Produkte liefern. Schließlich fehlt die Milchsäure überhaupt in einzelnen Fällen, und die Erzeugnisse der sauren Gärung setzen sich ausschließlich aus den eben als Nebenprodukten genannten Stoffen zusammen. Die Schwierigkeiten, die sich hieraus ergeben, sind bisher nur zum kleinsten Teil überwunden worden. Bei den meisten Bakterien sind wir weit entfernt davon, die tatsächliche Beschaffenheit und Menge ihrer Gärprodukte und den zeitlichen Verlauf der Gärung genauer zu kennen, geschweige denn, daß wir imstande wären, den ganzen Vorgang in Formeln zu fassen.

Als Beispiel gründlicher Untersuchungen¹⁾ führen wir zunächst die Ergebnisse von Analysen an, die Gayon und Dubourg²⁾ bei der Gärung des Bac. manniticus, eines vielleicht zur Gruppe der langen Milchsäurebazillen gehörenden Mikroben, gemacht haben.

Produkte aus	Glykose	Galaktose	Saccharose
Alkohol	22,7%	25,6%	23,2%
Milchsäure	31,4 „	34,8 „	28,7 „
Essigsäure	8,6 „	8,7 „	16,1 „
Bernsteinsäure	0,7 „	1,0 „	0,5 „
Glyzerin	9,7 „	9,0 „	6,7 „
Kohlensäure	21,0 „	21,8 „	21,2 „
Bakteriengewicht	2,3 „	—	—
<hr/>			
Im ganzen:	96,3%	100,8%	96,4%

Die Schwankungen, die die einzelnen Analysen zeigen können, sind dabei noch nicht einmal berücksichtigt, sie betragen bei der Vergärung der Glykose z. B. 20—30% des vergorenen Zuckers für den Alkohol, 25—45% für die Milchsäure, 6—12% für die Essigsäure. Bemerkenswert und wohl nicht zufällig ist die Übereinstimmung der Zahlen,

1) Vgl. auch die Arbeiten von Frankland, Harden, Pottevin in den folgenden Paragraphen.

2) Annal. Pasteur 1894 u. 1901.

die für Alkohol und Kohlensäure gefunden wurden. Sie erinnern daran, daß auch bei der alkoholischen Gärung durch Hefe aus Zucker etwa gleiche Teile Alkohol und Kohlensäure entstehen. Weiteren Eigenheiten des *Bac. manniticus* werden wir bei der Mannitgärung begegnen (§ 124).

Weniger vollständig, weil die gleichzeitig entwickelten Gase (Wasserstoff und Kohlensäure) nicht bestimmt worden sind, aber sehr wichtig wegen der umfangreichen Vergleichung der Gärung in verschiedenem Material sind die Analysen die *G r i m b e r t* ¹⁾ von der Gärung des *Bac. pneumoniae* (*F r i e d l ä n d e r*) angefertigt.

Produkte aus	Alkohol	Essigsäure	Milchsäure	Bernsteinsäure
Glykose	Spur	11,1%	58,4%	—
Galaktose	7,7%	16,6 „	53,3 „	—
Laktose	15,0 „	19,5 „	Spur	30,7%
Maltose	Spur	35 5 „	vorhanden	
Saccharose	Spur	29,6 „	43,6 ²⁾	
Arabinose	—	36,1 „	49,9 „	—
Xylose	6,9 „	23,4 „	Spur	19,9 „
Mannit	11,4 „	10,6 „	36,6 „	—
Dulzit	29,3 „	9,5 „	—	21,6 „
Dextrin	?	10,1 „	—	14,0 „
Glyzerin	10,0%	11,8 „	27,3 „	—
Kartoffeln	—	vorhanden	—	vorhanden

Besonders merkwürdig ist hier das Verhalten der Milch- und Bernsteinsäure, die sich z. T. gegenseitig auszuschließen scheinen, dann des Alkohols, der bei der Vergärung der Glykose fehlt, bei der Galaktose auftritt und bei der Laktose am reichlichsten vorhanden ist, während wir nach den Erfahrungen, die wir bei der Alkoholgärung durch Hefe gewonnen haben, die umgekehrte Reihenfolge erwarten sollten. Sehr auffallend ist ferner die ungleiche Spaltung der Disaccharide und der entsprechenden Monosaccharide. Sie läßt darauf schließen, daß hier der Spaltung keine Hydrolyse durch besondere Enzyme vorhergeht, denn sonst könnte z. B. die Laktose nicht andere Produkte liefern, als die Glykose und Galaktose, zu denen sie durch Laktase zerfällt. Ähnliches ergibt sich übrigens für den *Bac. manniticus* (s. o. und § 124).

Aus diesen Beispielen ist schon zu ersehen, daß es bei den wechsell-

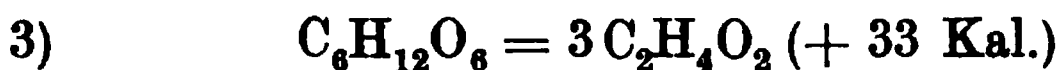
1) Annal. Pasteur 1895.

2) Nicht getrennt bestimmt.

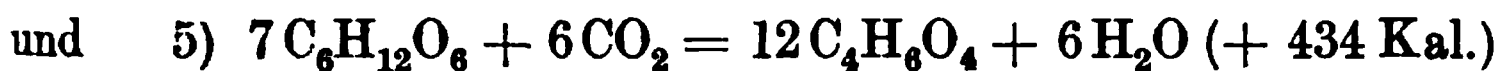
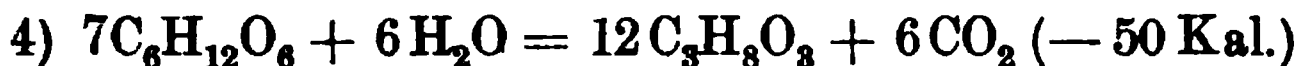
den Verhältnissen der Einzelprodukte schwer fallen würde, einheitliche Formeln für die Gärungen aufzustellen. Man wird eher mit *D u c l a u x* versuchen können, jedes dieser Einzelprodukte für sich aus dem Zucker abzuleiten, also das Bestehen mehrerer Gärungen nebeneinander vorauszusetzen. So hätten wir neben der Formel 1, die für die Milchsäure gilt, die uns schon bekannte Gleichung:



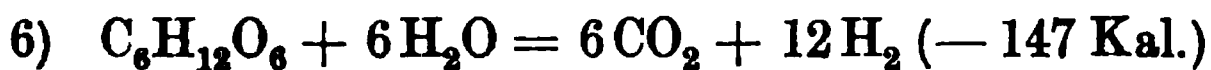
für Alkohol und Kohlensäure, die z. B. für den Fall des *Bac. manniticus* (s. o.) gut passen würde. Ebenso könnte man sich die Essigsäure entstanden denken wie folgt:



d. h. durch Zerspaltung des Zuckermoleküls in drei Moleküle Essigsäure. Für das Glyzerin und die Bernsteinsäure könnte man auf die Formeln *D u c l a u x'* (§ 90)



zurückgreifen, die wir schon von der Alkoholgärung her kennen. Schwieriger ist die Entwicklung von Wasserstoff zu deuten der in wechselnder Menge neben Kohlensäure gebildet wird. Die Formel



würde die Erklärung geben für das Volumenverhältnis Kohlensäure: Wasserstoff = 1 : 2, das sehr häufig wenigstens annähernd gefunden wird (§ 105). Eine theoretische Schwierigkeit besteht darin, daß die Umsetzungen nach 4 und 6, wie die Formeln der beigefügten Kalorienzahlen beweisen, nicht mit Entwicklung, sondern mit Bindung von Wärme verlaufen müßten¹⁾. Da durch die übrigen Spaltungen genügende Energie geliefert wird, so braucht man auf den Einwand wohl kein Gewicht zu legen. Die Schwierigkeit verschwindet übrigens, wenn wir die hier getrennten Prozesse auf einmal verlaufen lassen. So hat *H a r d e n* ²⁾ z. B. gefunden, daß sich die Vergärung der Glykose durch den *Bac. coli* ausdrücken läßt durch die Gleichung

1) Die Reaktionswärmen sind meist nach den *S t o h m a n n* schen Zahlen für die Verbrennungswärme der Reaktionskörper von mir berechnet, die Verbrennungswärme der Milchsäure hat *L o n g u i n e* *Ann. chim.* (6) 23. 210, 1891 angegeben (nach *H e r z o g*, *Zeitschr. physiol. Ch.* 37. 393), vgl. aber § 237.

2) *Proceed. Chem. Soc.* Mai 1901 (nach dem Bericht von *E m m e r l i n g*: Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien (1902, S. 44) vgl. auch *Kochs Jahresber.* 1901).



Wir erhalten ganz dieselbe Gleichung, wenn wir die Summe von

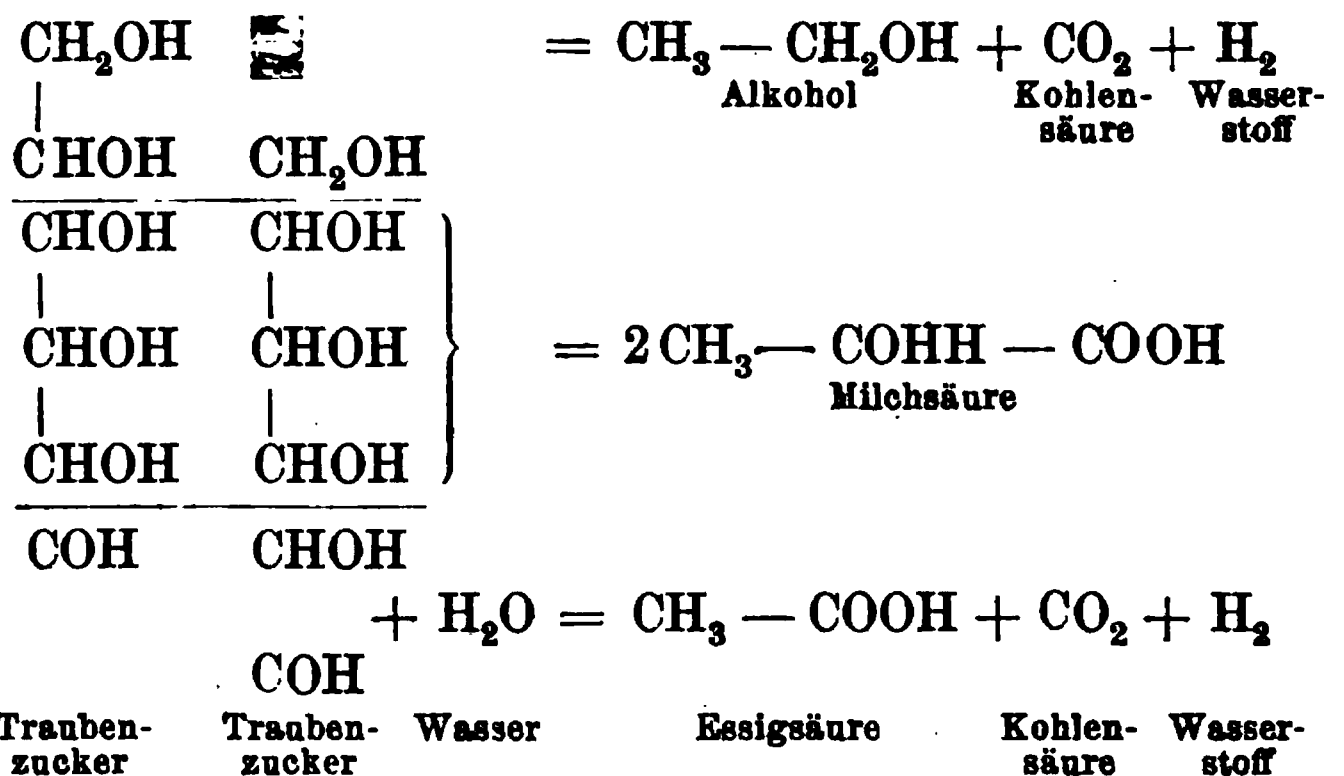
6 \times Gleichung 1

2 \times „ 3

3 \times „ 2

1 \times „ 6

nehmen und sie durch 6 dividieren. Die Reaktion verläuft dann unter Entwicklung von 16,5 Kal. Die obige verwickelte Gärung kann man sich aber auch nach H a r d e n folgendermaßen unmittelbar zustandegewonnen denken:



In ähnlicher Weise läßt H a r d e n die einzelnen Erzeugnisse aus der Vergärung der übrigen Zuckerarten einschließlich der Pentosen hervorgehen. Nach ihm würde der Alkohol zu seiner Bildung im Gärmaterial die Gruppe $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CHOH} -$ erfordern.

Leider fügen sich aber die analytischen Tatsachen nicht überall so schön einer einfachen Formel, wie nach H a r d e n in dem Fall der Vergärung des Traubenzuckers durch Colibazillen. Es wird uns also im allgemeinen nichts übrig bleiben als die Gärungen, wie oben, in Teilprozesse aufzulösen, und zu sprechen außer von Milchsäuregärung (1), von Alkoholgärung (2), Essigsäuregärung (3), die wir von der unter Sauerstoffzutritt erfolgenden (§ 135) als „anaërobe“ unterscheiden können, von Glyzerin-, Bernsteinsäure-, Wasserstoffgärung (4—6) und schließlich von der zwar seltener, aber gerade für wichtige Bakterien (Typhus-, Ruhrbazillen, Käsekokken) in Betracht kommenden Ameisensäure- und Propionsäuregärung. Wir werden sie im § 99—109 besonders besprechen, ohne damit ausdrücken zu wollen, daß sie alle selbständig auftreten können. Nur die Milchsäuregärung und allenfalls die Essigsäuregärung kommen allerdings

rein vor, die übrigen nur mit ihnen oder miteinander vergesellschaftet. Über Buttersäure-, Mannit- und Schleimgärung, die anderen Milchsäurebakterien eigen ist, sprechen wir in späteren Abschnitten. Die Trennung der Erörterung in besondere Abschnitte ist nötig, um von den Vorgängen ein klares Bild zu geben, sie soll aber nicht besagen, daß die Natur die Scheidung mit derselben Strenge vornehme. Vielmehr finden sich allenthalben Übergänge und die Veränderlichkeit spielt wahrscheinlich selbst bei einer und derselben Art oder Abart eine größere Rolle, als man früher annahm.

Bisher kennen wir nur ein Milchsäureenzym (§ 101), die übrigen Zersetzungen sind noch nicht auf solche zurückgeführt, wenn auch bei der Zymasegärung Essigsäure in kleinen Mengen entsteht (§ 90).

§ 99. Milchsäuregärung. Man hat früher vielfach bestritten, daß eine reine Milchsäuregärung vorkäme, und konnte sich dabei u. a. auf die Angabe von Ad. M a y e r ¹⁾ stützen, nach der nur 83,9% des vergorenen Milchzuckers als Milchsäure, 3,7% als Essigsäure und 12,4% als unbekannte Stoffe (darunter keine Gase) erscheinen sollten. Diese Versuche sind aber nicht mit Reinkulturen angestellt worden, also nicht beweisend. K a y s e r ²⁾ hat dieses Erfordernis in seiner noch häufig zu zitierenden Arbeit erfüllt. Ein Mangel seiner Untersuchung besteht darin, daß die von ihm benutzten Bakterien nicht genügend beschrieben sind, so daß man meist darauf verzichten muß, sie sicher wiederzuerkennen. Zum größten Teil gehören sie aber offenbar in die Gruppe des *Streptococcus lacticus*.

	I.	II.	III.
	Malzaufguß mit 13,3‰ Glykose u. 5‰ Pepton	Zwiebelaufguß mit 10,5‰ Glykose	Zwiebelaufguß mit 7,5‰ Glykose
Bakt. n ohne Sauerstoffzutritt	93,8%	94,0%	95,3%
mit „	70 „	60 9 „	62,1 „
Bakt. b ohne „		74,6 „	
mit „		80,6 „	
Bakt. o ohne „		100 „	
mit „		98,9 „	

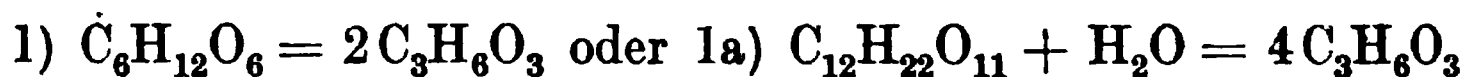
1) Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1891, 183, ref. K o c h s Jahresber. 1891, 173.

2) Annal. Pasteur 1894, vgl. auch die spätere Arbeit in Annal. Inst. agron. (K o c h s Jahresber. 1904. 319). Sie betraf 4 grampositive Milchsäurebakterien (Strept. und Bazillen) und zeigte recht wechselnde Verhältnisse (s. u. im Text).

Vorstehende Übersicht gibt die Resultate einiger Versuche, die K a y s e r mit verschiedenen Milchsäurebakterien teils in Gefäßen mit großer Oberfläche — also bei ungehindertem Luftzutritt — teils in hohen engen Kölbchen — also fast unter anaëroben Bedingungen — ausgeführt hat. Die Zahlen geben in Prozenten die Ausbeute der Milchsäure aus dem vergorenen Zucker an. Die Bakterien entsprechen drei Typen: Bacterium o aus belgischem Bier, nach der Beschreibung ein echter Streptococcus lacticus, vergärt, gleichgültig, ob mit oder ohne Sauerstoffzutritt, den Zucker vollständig oder wenigstens zu 99% zu Milchsäure; Bacterium n, das aus Sauerkraut stammt und seinen Kultureigenschaften nach mehr den langen Milchsäurebazillen zu entsprechen scheint, gibt bei Sauerstoffabschluß 94—95% Milchsäure, bei freiem Sauerstoffzutritt nur 60—70% und Bacterium b aus Rahm, der seinen Eigenschaften nach in der Mitte steht, gibt unabhängig von dem Einfluß des Sauerstoffs 75—80% Milchsäure.

Auch ein von P o t t e v i n ¹ aus Zwiebelinfus gezüchtetes Milchsäurebakterium erzeugte in diesem Medium, nach Zusatz von 1% Pepton und verschiedenen Zuckerarten (Laktose, Saccharose, Maltose, Glykose Invertzucker, Galaktose und Mannose) 98—95% Milchsäure. Auffallenderweise sank die Ausbeute aber bei Verringerung des Peptonzusatzes auf 94—81%.

Aus diesen Versuchen K a y s e r s und P o t t e v i n s folgt zunächst, daß es eine reine Milchsäuregärung gibt, bei der der Zucker im wesentlichen nach der Gleichung (§ 98)



gespalten wird, daß also die von H o p p e - S e y l e r ²⁾ und A d. M a y e r ³⁾ aus theoretischen Gründen gegen diese Formel erhobenen Bedenken nicht stichhaltig sind.

Während die in diesen Versuchen benutzten Bakterien sich nicht mit Sicherheit identifizieren lassen, ist das der Fall bei den von W e i g m a n n ⁴⁾, L e i c h m a n n ⁵⁾ und B a z a r e w s k i, H e n n e b e r g ⁶⁾ (und K o w n a t z k i) B e i j e r i n c k ⁷⁾, K o z a i ⁸⁾, B e r -

1) Annal. Pasteur 1898.

2) Pflügers Arch. 12.

3) Gärungschemie 5. Aufl.

4) Milchzeitung 1896. 147.

5) Ebenda 65; Zentr. Bakt 2. Abt. 2, 1896 und 6, 1900 vgl. K o c h s Jahresber.

6) Woch. Brauerei 1901 und Zeitschr. f. Spiritusind. 1903 (K o c h s Jahresber.).

7) Zeitschr. f. Spiritusind. 1901 (K o c h s Jahresber.)

8) Zeitschr. f. Hyg. 31 und 38.

trand und Weißweiller¹⁾ u. a. studierten. Nach ihnen bilden gerade die beiden wichtigsten („energischsten“: Beijerinck) Milchsäurebakterien, die Streptokokken und langen Bazillen (§ 97), fast ausschließlich Milchsäure. Doch scheinen einige Varietäten namentlich der letzteren eine Ausnahme zu machen, indem sie nicht ganz unerhebliche Mengen von Kohlensäure, Alkohol und flüchtiger Säure entwickeln (Beijerinck, Henneberg). Besonders gälte das von dem Bac. manniticus von Gayon und Dubourg (§ 98 u. 124), sofern er in die Gruppe der langen Milchsäurebazillen gehören sollte. Viel reichlicher pflegen diese Nebenerzeugnisse aber nach allgemeinem Urteil bei der Gärung des Bac. aërogenes und anderen Mitgliedern der dritten Gruppe (§ 97) zu sein und nach Kozai u. a. auch bei der freiwilligen Gärung der Milch, wenn sie bei höherer Temperatur und längere Zeit verfolgt wird.

Die vierte Gruppe, die der Labsäurebakterien, ist noch nicht genügend in dieser Beziehung studiert worden, ihre Fähigkeit, das Eiweiß zu zersetzen, läßt aber schon darauf schließen, daß unter ihren Produkten die flüchtigen Säuren eine wesentliche Rolle spielen werden.

Zweitens wird durch diese Arbeiten ein anderes Vorurteil, das auf Grund der Angaben von Hüppe, Ad. Mayer u. a. entstanden war, nämlich, daß die Milchsäuregärung ein wesentlich aërober Vorgang sei, widerlegt. Im Gegenteil ist die Ausbeute an Milchsäure durchschnittlich höher oder mindestens ebenso hoch bei spärlichem oder mangelndem Sauerstoffzutritt. Kayser hat das für die übrigen von ihm daraufhin geprüften Milchsäurebakterien bestätigt gefunden. Auch wenn er völlig anaërobe Versuchsbedingungen herstellte, war immer ein üppiges Wachstum und reichlichste Produktion von Milchsäure zu erzielen. Das stimmt mit unseren eigenen und fremden Erfahrungen überein. Allerdings findet Köstler²⁾ bei einem langen Milchsäurebakterium das Optimum der Säurebildung bei einem gewissen Mindestdruck des Sauerstoffs. Etwas anders liegt, wie wir später sehen werden, die Sache bei der Essigsäurebildung (§ 103).

Die dritte Tatsache ist der günstige Einfluß, den eine reichliche und zwar aus Pepton oder Eiweiß bestehende Stickstoffernährung auf die Milch-

1) Annal. Pasteur 1906. Auf 25 g Milchsäure erzeugt der Bac. bulgaricus nur je 0,5 g Essig- und Bernsteinsäure. Nach Bertrand und Duchacek (Annal. Pasteur 1909, 5) soll aus anderen Zuckerarten auch etwas Ameisensäure gebildet werden.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 19. 1907.

säuregärung ausübt. Nachdem schon frühere Autoren ähnliches gefunden, hat K a y s e r durch besondere Versuchsreihen den Satz über jeden Zweifel gestellt¹⁾. Besonders wichtig ist die Feststellung, daß bei reichlichem Peptonzusatz schließlich die Ausbeute an Milchsäure größer ist, als der Zuckermenge entspricht. Es muß diese Säure also auch aus den stickstoffhaltigen Substanzen abgespalten werden. In der Tat hat das K a y s e r an einem seiner Bakterien für rein dargestelltes Pepton aus Eiweiß und Fibrin bewiesen. Andere Säuren wurden nur spurweise gebildet, R o d e l l a ²⁾ leitet sogar die Milchsäure, die seine langen Bazillen aus Darminhalt (*Acidophilus*) bilden, wesentlich aus Eiweiß her. Es läßt sich nicht leugnen, daß durch diese Erfahrung die oben von K a y s e r für die Spaltung des Zuckers in Milchsäure gegebenen Zahlen etwas an Sicherheit verlieren. Man wird sich künftig nicht darauf beschränken dürfen, den Zuckerverbrauch und die Milchsäureerzeugung zu bestimmen, sondern möglichst alle sonstigen Produkte der Zuckerspaltung und der Eiweißzersetzung feststellen müssen. Daß gleichzeitig auch die Bakterienernte zu messen ist, wenn man eine richtige Bilanz der Gärung erhalten will, ist eigentlich selbstverständlich, bisher aber nur in wenigen Fällen berücksichtigt worden (vgl. § 235).

Die P o t t e v i n s c h e n Zahlen werden übrigens nicht von dieser Unsicherheit berührt, denn nach den Feststellungen dieses Autors ist das von ihm studierte Milchsäurebakterium nicht imstande, Milchsäure aus Pepton zu bilden. Wohl wurden bis zu 0,2‰ Essigsäure erzeugt. Das Vorkommen einer reinen Milchsäuregärung kann also nicht angezweifelt werden.

§ 100. Einfluß des Gärmaterials auf die Milchsäuregärung. Außerordentlich groß sind die Verschiedenheiten in dem Verhalten der einzelnen Kohlenhydrate bzw. Zuckerarten zur Milchsäuregärung. Es ist schwer, dafür allgemeine Regeln aufzustellen. Am besten betrachten wir die einzelnen Erreger für sich. Was zunächst die Gruppe der Milchsäurestreptokokken³⁾ anlangt, so werden schon die Hexosen

1) Bestätigungen s. bei L e i c h m a n n und B a z a r e w s k i, B e i j e r i n c k, K o z a i, L. M ü l l e r (Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 249). Ob die echten Milchsäurebakterien wirklich ohne eiweißartige Stoffe nicht gedeihen können, müßte wohl noch sicherer festgestellt werden. Die Coli-gruppe ist jedenfalls dazu imstande (P r o s k a u e r und C a p a l d i, Zeitschr. f. Hyg. 23).

2) Zentr. Bakt. 47 vgl. S. 288 unten.

3) Vgl. außer K a y s e r (K o c h s Jahresber. 1904. 320), L. M ü l l e r, (Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 748, 1907), Th. G r u b e r, (ebenda 760), auch

nicht gleichmäßig von ihnen vergoren. Allerdings scheint wie nach älteren Erfahrungen, so nach denen von L. Müller und Salomon¹⁾ die Regel zu gelten, daß sie Glykose und Fruktose (Lävulose) am stärksten von allen Zuckerarten und ungefähr gleich stark angreifen. Galaktose wird nach Th. Gruber von *Strept. lacticus* überhaupt nicht zersetzt, aber der Kokkus Nr. 1 Kayser's, der offenbar zu ihm gehört, vermag das doch, wenn auch in mäßigem Umfange, ebenso der *Streptococcus pyogenes* nach Salomon. Die Mannose ist nach letzterem Forscher erheblich widerstandsfähiger, wird aber auch von einzelnen Stämmen vergoren. Von den Disacchariden wird allein der Milchzucker durch den *Strept. lacticus* regelmäßig, jedoch in etwas geringerem Maße zersetzt, als Traubenzucker und Fruchtzucker. Maltose wird dagegen manchmal und Saccharose häufig unberührt gelassen. Der *Streptococcus pyogenes* soll dagegen nach Salomon u. a. umgekehrt häufiger Rohrzucker und namentlich Malzzuckervergären als Milchzucker. Trisaccharide wie Raffinose erleiden selten, Polysaccharide (Dextrin und Stärke) wieder öfter (Salomon) Zersetzungen. Aus Pentosen (Arabinose) erzeugen nach Müller die meisten Stämme des *Strept. lacticus* etwas Säure, einige ziemlich viel (vgl. auch Salomon). Der Alkohol Mannit verfällt, um das gleich hier zu bemerken, häufig und manchmal ziemlich ausgiebig der Milchsäuregärung, Glyzerin^{*} seltener und im geringerem Umfange (§ 131).

Die langen Milchsäurebazillen²⁾ zeigen schon gegenüber den Hexosen größere Verschiedenheiten. Nach Henneberg gibt es einige Spielarten (*Saccharobac. pastorianus* var. *berolinensis*, *Bac. Lindneri*), die Fruktose weniger angreifen als Glykose, nach Bertrand und Duchacek³⁾ gehört dazu auch der *Bac. bulgaricus*. Galaktose wird von *Bac. Delbrückii* und *lactis acidii*, die Fruktose gut vergären, weniger

die Zusammenstellung bei Weigmann in Lafars Handb. 2. 92 und die in § 112 am Schluß aufgeführten Arbeiten von Gordon, Salomon u. a.

1) Auffallend ist, daß Gruber mit einer Anzahl seiner Streptokokken bei Glykose keine, bei Milchzucker immer Vergärung erhielt. Vielleicht lag das an dem Nährboden (Hefewasser). Jedenfalls war in Müllers viel zahlreicheren Versuchen in Bouillon oder Fleischextrakt die Vergärung in Traubenzucker stets am deutlichsten ausgesprochen. Salomons Ergebnisse sind übrigens wegen der von ihm gewählten (aëroben) Versuchsanordnung ebenfalls mit Vorsicht aufzunehmen.

2) Vgl. außer Kayser und Weigmann (Anm. 3. S. 298), besonders Henneberg, Zeitschr. f. Spiritind. 1903 (Kochs Jahresber.)

3) Annal. Pasteur 1909.

stark, von *Bac. berolinensis* und *bulgaricus* dagegen kräftig zersetzt. Auch Mannose widersteht letzterem nicht. Von den Disacchariden wird durch die langen Bazillen am besten die *Maltose* vergoren, nicht wie durch die Milchstreptokokken der Milchzucker, nur der *Bac. casei* (von *Freudenreich* und *Thöni*) und der *Bac. bulgaricus* machen eine Ausnahme. Das hängt wohl damit zusammen, daß die beiden letzteren in milchzucker-, die übrigen in malzzuckerhaltigen (pflanzlichen) Nährböden sich aufzuhalten pflegen (§ 111)¹⁾. Der *Bac. casei* ϵ steht insofern allein, als er sogar Milchzucker kräftiger zersetzt als die Hexosen. Rohrzucker wird häufig unberührt gelassen, ebenso Trehalose und das Trisaccharid Raffinose. Der *Saccharobacillus pastorianus* versetzt Dextrin und Stärke in milchsaure Gärung und ebenso wie die Käsebazillen α und γ (von *Freudenreich* und *Thöni*) auch die Pentosen Arabinose, Xylose, Rhamnose. Zu den Mannit- und Glyzerinvergärem (§ 131) gehören ebenfalls lange Bazillen, wenn wir solche auch gerade umgekehrt als Erzeuger von Mannit und Glyzerin aus Zucker kennen lernen werden (§ 124 u. 106).

Die Gruppe des *Bac. aërogenes*, bei der die gewöhnlichen Gärungen überwiegen, zeigt noch mehr Eigentümlichkeiten. So soll nach *Brieger*²⁾ und *Frankland*³⁾ der Pneumoniebazillus — nach dem ersteren auch der Typhusbazillus nach dem letzten auch der *Bac. ethaceticus* — Traubenzucker überhaupt nicht in milchsaure, sondern nur in essigsaure und alkoholische Gärung⁴⁾ versetzen (s. u. § 103 u. 104). Wenn diese Angabe richtig ist, so kann es freilich nur für bestimmte Stämme dieser Bakterien oder besondere Bedingungen gelten, denn die meisten anderen Forscher (*Tate*⁵⁾, *Grimbert*⁶⁾, *Kayser*⁷⁾, *Emmerling*⁸⁾, *Bovet*⁹⁾, *Macfadyen*,

1) Viele lange Milchsäurebazillen sollen nach *Henneberg* sogar in Milch gar nicht wachsen, wie die Milchsäurestreptokokken umgekehrt in Bier nicht gedeihen.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 8 u. 9 (*Friedländers* „Pneumokokkus“); weitere Untersuchungen über *Ptomaine*, 1885 (Typhus).

3) Mit *Stanley* und *Frew*, Transact. chem. soc. 1891, *Kochs* Jahresber. 91. 235 (Pneumoniebazillus), mit *Lumsden*, *Kochs* Jahresber. 1892. 231 (*Bac. ethaceticus*).

4) Von den nebenbei entwickelten Gasen wird hier vorläufig abgesehen (vgl. § 105).

5) *Kochs* Jahresber. 1893. 191 („Askokokken“).

6) *Annal. Pasteur* 1895 und 1896 (Pneumoniebazillen) vgl. S. 292: *Compt. rend. soc. biol.* 1896 und *Kochs* Jahresber. 1896. 223. (Colibazillen).

7) *Annal. Pasteur* 1894.

8) *Ber. chem. Ges.* 33. 2477 (Aërogenes).

9) *Kochs* Jahresber. 1891. 239. (Coli).

Nencki und Sieber¹⁾, Blachstein²⁾, Harden³⁾, Kozai⁴⁾, Pottvin⁵⁾ fanden bei dem *Bac. pneumoniae* und den ihm mehr oder weniger verwandten *Bac. aërogenes*, *acidi lactici* (*laevolactici*), *coli*, *typhi*, *paratyphi* zwar auch gewöhnlich essigsaure, Ameisensäure oder alkoholische Gärung (oder beide zusammen), daneben aber immer auch milchsaure. Ja, die letztere pflegte gerade bei der Zersetzung des Traubenzuckers die vorherrschende zu sein. Ob das auch bei den hierher gehörigen Ruhr- und Pseudodysenteriebazillen der Fall ist, oder ob bei ihnen die milchsaure Gärung (der Traubenzuckerbouillon) durch die essig- und Ameisensäure ersetzt wird, ist noch festzustellen.

Die übrigen Hexosen sind nur ausnahmsweise geprüft worden: nach Harden verhält sich dabei Fruktose und Galaktose dem *B. coli* gegenüber wie Glykose, während aus der Galaktose nach Grimbert vom *Bac. pneumoniae* zwar ähnliche Mengen Milchsäure, aber ungleiche Mengen Alkohol und Essigsäure gebildet werden (S. 292). Nicht unmittelbar benutzbar sind die Arbeiten von Jensen und Bahr, Dieudonné und Segin, MacConkey u. a. über die Säurebildung von *Coli*-, *Aërogenes*-, *Paratyphus*bazillen, usw. in den verschiedenen Zuckerarten, weil sie über die Art der Säure nichts mitteilen (§ 112), sie lehren aber wohl das eine, daß Glykose und Fruktose meist gleich stark, Galaktose und namentlich Sorbose weniger oder gar nicht angegriffen werden. Auch für die Vergärung der Disaccharide mit Ausnahme des Milchzuckers können wir meist nur auf ähnliche, wesentlich zum Zwecke der Differentialdiagnose vorgenommene Untersuchungen verweisen. Sie lehren uns aber, daß auch hier Malzzucker am häufigsten, Milchzucker und Rohrzucker seltener, und zwar bald dieser, bald jener häufiger zersetzt wird. Eine Ausnahme macht der *Bac. aërogenes paradoxus* Wortmanns⁶⁾, der Milchzucker (unter Gasbildung) vergärt, nicht Traubenzucker. Was die Art der Vergärung anbetrifft, so soll sie nach Harden beim *Colibazillus* ähnlich der der Glykose und Fruktose sein, nach Grimbert würde sich aber beim *Bac. pneumoniae* ein großer Unterschied ergeben, indem Malz- und Rohrzucker in Milchsäure, Bernsteinsäure und Essigsäure zerfielen, Milchzucker aber in Bernsteinsäure, Essigsäure

1) Arch. exper. Path. 28.

2) Baumgartens Jahresber. 1894. 252 (Typhus).

3) Lit. vgl. S. 293 Anm. 2 (*Coli*, Typhus); ferner Journ. of hyg. 1905 (*Coli*, *aërogenes*, *cloacae*, u. a. m.).

4) Zeitschr. f. Hyg. 38. 404, 1901.

5) Annal. Pasteur 1905 (Paratyphus und Enteritidis).

6) Ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 20. 540.

und Alkohol. Diese Angaben Grimberts sind von großer Bedeutung, weil sie lehren, daß bei der Vergärung des Milchzuckers und auch wohl der beiden anderen Disaccharide durch den *Bac. pneumoniae*, wenn man sie vergleicht mit derjenigen der sie zusammensetzenden Hexosen, die Milchsäure durch die Bernsteinsäure ersetzt wird, also kaum die Rede davon sein kann, daß der Gärung eine Hydrolyse vorausgeht. Nach Grimbert, Blumenthal¹⁾, Seelig²⁾, Bienstock³⁾ sollen sich verschiedene Stämme des *Bac. coli*, nach Emmerling auch solche des *Bac. aërogenes* ähnlich verhalten, d. h. Bernsteinsäuregärung in Milch oder Milchzuckerlösung verursachen (§ 107). Andere Untersucher wie Kayser fanden bei *Aërogenes* einen Unterschied, je nachdem sie ihn in Milch oder künstlicher Milchzuckerlösung prüften: nur in ersterer blieb die milchsaure Gärung fast völlig aus — wieder ein Beweis für den Einfluß der Stickstoffnahrung (S. 297) auf den Ausfall der Gärung — in letzterer hielt sie sich mit der essigsäuren etwa die Wage. Baginsky⁴⁾, Haacke⁵⁾, sowie für einige seiner Colistämme auch Grimbert erhielten neben einem Überschuß der Essigsäure in der Milch immer noch beträchtliche Mengen Milchsäure. Andere, wie Oppenheimer⁶⁾, Leichmann⁷⁾ und Kozai (a. a. O.) sahen dagegen auch bei der Vergärung der Milch durch *Aërogenes*- oder Colistämme die Milchsäure überwiegen und die Essig- und Bernsteinsäure, wenn überhaupt, nur in kleinen, allerdings wechselnden Mengen entstehen. Man sieht, daß es wesentlich von der Stammeseigentümlichkeit abhängt, ob Milchsäure, Bernsteinsäure oder Essigsäure das Haupterzeugnis der Vergärung des Milchzuckers durch die *Aërogenes*gruppe ist.

Von Trisacchariden verhält sich Raffinose nach Jensen und Bahr, Segin u. a., was die Säuerung überhaupt anlangt, gegen die Gruppe der Colibakterien ähnlich wie Rohrzucker, Melezitose wird nicht angegriffen. Dextrin, Stärke, Inulin werden ebenfalls häufig in saure Gärung versetzt, jedoch nach Grimbert von Pneumoniebazillen nur in essig- und bernsteinsaure. Die Pentosen (Arabiose, Xylose, Rhamnose) werden meist so stark

1) Virchows Arch. 146, 1900.

2) Ebenda.

3) Arch. f. Hyg. 39. 410.

4) Zeitschr. f. physiol. Ch. 12 (*Bac. aërogenes*), eb. 13 (*Coli*).

5) Arch. f. Hyg. 42 (*Bac. acidi lactici*).

6) Ref. Zentr. Bakt. 6. 586.

7) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 344.

vergoren wie die Hexosen. Dabei bilden sich zwar nach Grimbert, Harden aus der Arabinose neben Essigsäure große Mengen Milchsäure, aus der Rhamnose aber nach Tate sogar ein Überschuß von Essigsäure und aus der Xylose nach Grimbert neben Essigsäure und Alkohol nur Bernsteinsäure, während aus der Vergärung der Arabinose durch den *Bac. ethaceticus* nach Frankland und Mac Gregor¹⁾ der Hauptsache nach Essigsäure und Alkohol, ferner Ameisensäure und nur wenig Bernsteinsäure entstehen. Die Gärprodukte sind also ähnlich wie bei der Vergärung des Traubenzuckers, nur soll das Verhältnis der Essigsäure zum Alkohol größer werden. Glycerin wird, um das schon hier zu erwähnen, meist, Mannit, fast regelmäßig, Dulzit weniger häufig und Erythrit am seltensten zersetzt (§ 131).

Die Gruppe der Säurelabbakterien ist bisher nur wenig untersucht worden. Vom *Pediococcus acidilactici* erwähnt Hennberg, daß er die Hexosen, aber auch manche andere Zuckerarten säure. Von der Säurebildung der *Bac. cloacae*, proteus, der Anaëroben, der Spirillen wird später noch die Rede sein (§ 112). Meist ist die Beschaffenheit der Säure nicht festgestellt worden. Doch spricht Harden²⁾ dem *Bac. cloacae*, Schattenfroh³⁾ außer den Buttersäurebazillen den nicht buttersäurebildenden Baz. des malignen Ödems und *Putrificus coli*, Kuprianow den Spirillen (vgl. § 102) Milchsäuregärung in Hexosen und Disacchariden zu. Noch nicht völlig aufgeklärt ist das Verhalten des *Proteus vulgaris*. In Milchzuckerlösungen ruft er keine Gärung hervor, die Milch macht er aber nach Biensstock⁴⁾ sauer. Dabei soll sich allein Bernsteinsäure bilden (etwa aus Eiweiß? vgl. S. 298). Traubenzucker und auch oft Saccharose verfallen der sauren Gärung, aber die Natur der Säure ist unbekannt.

Die Verschiedenheiten werden noch größer, wenn wir auch die Konfiguration der Milchsäure berücksichtigen. Selbst das, was wir bisher als reine Milchsäuregärung betrachtet haben, ist kein einheitlicher Prozeß, da das Produkt, die Milchsäure, nicht immer das gleiche ist, sondern sich oft durch seine Konfiguration unterscheidet. Wir kommen gleich darauf zurück (§ 102).

1) Kochs Jahresber. 1892. 232.

2) Journ. of hyg. 1905. 488; auch Leichmanns Aërogenesstamm aus Milch, der neben viel Milchsäure keine flüchtige Säure, sondern Bernsteinsäure bildet, gehört wohl zum *Bac. cloacae* wegen der Zusammensetzung seiner Gase (§ 105).

3) Arch. f. Hyg. 48. 100.

4) Ebenda 39. 410.

§ 101. **Stärke der Milchsäuregärung. Gärungsenzym.** Ebenso ungleich ist die Kraft, mit der die einzelnen Milchsäurebakterien die Gärung bewirken. *Kayser* fand unter seinen dreizehn Milchsäurebakterien eins, das in dem besten Nährboden, der mit Pepton versetzten Milch, es höchstens bis auf einen Säuregrad von 2,2‰ brachte, während andere 10, 15 und selbst 17,5‰ Säure erzeugten. Allerdings ist der am Ende erreichte Säuregehalt nicht überall der überhaupt erreichbare, da manche Bakterien die von ihnen produzierte Säure allmählich selbst teilweise verzehren (vgl. *Kayser* § 103). Freilich ist der Säureverlust, der dadurch entsteht, selten sehr bedeutend. Man hat eine gewisse Berechtigung, anzunehmen, daß der Grad der Gärung durch die einzelnen Mikroorganismen abhängt von ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber der Säure, doch erklärt sie noch nicht die vorkommenden Unterschiede. Denn die Erfahrung lehrt zwar, daß, wenn der Gärflüssigkeit zum Abstumpfen der Säure kohlensaurer Kalk zugesetzt wird, die im ganzen gebildete Säure fast durchweg höher ansteigt, das Verhältnis, in dem die Gärkraft der einzelnen Bakterien zueinandersteht, aber im wesentlichen dasselbe bleibt. Auch viele andere Forscher fanden große Unterschiede in der Gärkraft. So ist die Säurebildung nach *L. Müllers*¹⁾ zahlreichen Bestimmungen bei den einzelnen Stämmen des *Strept. lacticus* nicht nur sehr ungleich, sondern schwankt auch zeitlich bei einem und demselben Stamme, und zwar beobachtet man je nach Umständen bald einen Gewinn, bald einen Verlust der Gärkraft. Für die langen Milchsäurebazillen gilt das gleiche. Unter den letzteren findet man die kräftigsten Gärungserreger. So erzeugt der *Bac. bulgaricus* im Yoghurt nach *Bertrand* und *Weißweiler*²⁾ und der *Bac. Delbrückii* im sauren Hefegut (*Lafar* u. a. § 111) 2—4 mal soviel Säure als gewöhnlich bei der natürlichen Gärung der Milch entsteht (0,6‰).

Von der Wachstumskraft der Bakterien hängt das Gärvermögen ebensowenig ab, wie von ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Säure. Es bleibt also nur übrig anzunehmen, daß sie es einer besonderen, ihnen in mehr oder weniger hohem Grade eigenen Fähigkeit verdanken. Während man diese noch vor nicht langer Zeit gewöhnlich als Eigenschaft des lebenden Protoplasmas betrachtete, haben wir jetzt Grund, sie auf ein trennbares Enzym, das von *E. Buchner* neuerdings „Bakterienzymase“, (S. 252 u. 264), von *Stoklasa* „Laktolase“ genannt wird, zurückzuführen.

E. Buchner und *Meisenheimer*¹⁾ haben Reinkulturen

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 744 ff., 1907.

2) Annal. Pasteur 1906.

1) Ber. chem. Ges. 36. 635, 1903 und Annal. der Chem. 349, 1906.

von *Bac. Delbrückii*, der im Brennereibetrieb zur Säuerung der Maischen im großen Maßstabe angewandt wird, in hochprozentiger Würze bei 40—45° C kultiviert, die Bakterien durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit getrennt, nochmals in Wasser aufgeschwemmt, wieder zentrifugiert, den Bodensatz mit 20 Teilen Azeton 10—15 Minuten lang angerührt (vgl. die Herstellung der „Dauerhefe“ § 89), auf dem Filter mit Azeton und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Sie erhielten etwa 1 g trockene Bakterien aus je 1 Liter. Diese wurden mit gleichen Teilen Quarzsand unter Zusatz einer geringen Wassermenge 10 Minuten lang verrieben, was zu vollständigem Zerreißen der Zelle genügte. 6,5 g der Bakterien ergaben dann mit 35 ccm Wasser, 7,5 g Rohrzucker, 1 g Kalziumkarbonat und 1 ccm Toluol bei 30° nach 4 Tagen 0,11 g, nach 6 Tagen 0,27 g Kohlensäure, entsprechend 1,1 g Milchsäure. Letztere wurde aus dem Rückstand nach Ansäuren mit Schwefelsäure durch Äther ausgeschüttelt und als Zinksalz dargestellt (0,9 g). Der klare Preßsaft aus den frischen Bazillen war unwirksam, sein Rückstand aber wieder wirksam; das Enzym ist also entweder unlöslich oder die Zellsubstanz wird durch das Zerreiben nicht genügend aufgeschlossen. Neben dem Gärungsenzym ist in den Zellen ein invertierendes Enzym (§ 78) enthalten.

Etwa gleichzeitig gewann Herzog¹⁾ ebenfalls im Laboratorium von Buchner aus Reinkulturen von *Bac. aërogenes* (*B. acidi lactici* Hüppe) durch Schütteln mit Kieselguhr ein Pulver, das trocken abgepreßt und mit reichlichen Mengen eiskalten Methylalkohols versetzt, nach 10 Minuten mit Äther gewaschen und im Brutschrank getrocknet wurde. Das Pulver, das sich als frei von lebenden Keimen erwies, war imstande, Milchzucker in Milchsäure zu verwandeln. Doch ging die Reaktion sehr langsam vor sich und förderte so geringe Mengen von Milchsäure zutage, daß der Nachweis nur auf mikrochemischem Wege durch das Kobalto-Bariumlaktat möglich war.

Ein ähnliches Enzym hat Stoklasa²⁾ aus pflanzlichem und tierischem Gewebe gewonnen.

Fraglich ist, ob die Gärungsfermente, die wir danach wohl bei allen Milchsäurebakterien voraussetzen dürfen, bloß Hexosen (und Pentosen) vergären oder auch Disaccharide ohne Beihilfe besonderer hydrolytischer Enzyme spalten. Nachgewiesen sind letztere mit Ausnahme der Diastase bisher ja nur ausnahmsweise bei Bakterien. Sie könnten freilich, wie die Invertase im *Bac. Delbrückii* (s. o.) fest an die Zellen gebunden, d. h. Endoenzyme sein. Wahrscheinlich be-

1) Zeitschr. physiol. Chem. 37. 381.

2) Ber. botan. Ges. 1904. 460; Ber. chem. Ges. 1905. 664.

ruhen die Unterschiede zwischen den einzelnen Bakterien auf der Verschiedenheit ihrer Milchsäurefermente. Über die chemischen Vorgänge dabei vgl. das bei der Zymase Gesagte (§ 88).

Die günstigste Temperatur für die Milchsäuregärung ist nach K a y s e r für die meisten Bakterien 30—35°, einige der von ihm untersuchten Arten, die dem Bac. aërogenes nahestehen, wirkten aber energischer bei 40° und noch kräftig bei 45°. Bei letzterer Temperatur oder noch höher (bis 52°) gärt der Bac. Delbrückii (Bac. acidificans longissimus), der in der Brennerei zur Säuerung der Maische verwendet wird, und der Bac. lactis acidi, den L e i c h m a n n in der Milch gefunden hat. Erst unter 35° pflegen dagegen die langen Bazillen des sauren Bieres (Saccharobac. pastorianus, Bac. Lindneri Henneberg) zu wachsen. Zwischen 10—15° verläuft die natürliche Gärung in der Milch schon sehr langsam.

Die Erfahrung der Milchwirtschaft hat gelehrt, daß einmaliges Erhitzen der Milch auf 60—65° zwar die große Mehrzahl der Milchsäurebakterien tötet, aber die widerstandsfähigsten noch lebendig läßt. Nach K a y s e r bestehen auch hier je nach der Art große Unterschiede¹⁾. Erst Temperaturen von 70° und mehr töten sicher und schnell.

Ähnlich wie Erhitzung wirken Gifte. In kleinsten Dosen beschleunigen die letzteren die Gärung (§ 55).

§ 102. Die Beschaffenheit der Milchsäure. Soviel man weiß, wird bei der Milchsäuregärung nur die Äthylidenmilchsäure oder α -Oxypropionsäure von der Formel $\text{CH}_3\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH}$ gebildet, nicht die β -Oxypropionsäure $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$. Sie erscheint aber in drei Formen, die sich durch ihr Verhalten gegenüber dem polarisierten Licht, ihre Löslichkeit und ihr Kristallwasser voneinander unterscheiden, die Rechtsmilchsäure (Fleischmilchsäure, Paramilchsäure), Linksmilchsäure und die optisch inaktive oder Gärungsmilchsäure. Dieser letztere Name, der von L i e b i g stammt, ist nach den heutigen Erfahrungen nicht gerechtfertigt, denn bei der natürlichen sauren Gärung der Milch entsteht nach G ü n t h e r und T h i e r f e l d e r ²⁾, K o z a i ³⁾, T h i e l e ⁴⁾, U t z ⁵⁾ und anderen, z. B. in meinem Laboratorium von H ö l l i n g gemachten Untersuchungen zwar häufig inaktive, der Regel nach aber mehr oder weniger R e c h t s m i l c h -

1) Eine Zusammenstellung über die Temperaturverhältnisse der einzelnen Arten s. bei W e i g m a n n in L a f a r s Handb. 2. 96.

2) Arch. f. Hyg. 25; Hyg. Rundschau 1900. 769.

3) Lit., soweit hier nicht aufgeführt in den § 97 ff.

4) Arch. f. Hyg. 46, 1904.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 600, 1904.

säure. Seinen Grund hat das im wesentlichen wohl darin, daß der *Streptococcus lacticus* in Reinkultur, wie fast alle Untersucher gefunden haben, diese letztere Säure bildet. Wie dieser verhalten sich auch die übrigen Streptokokken, z. B. der *Streptococcus pyogenes* und *lanceolatus* (Hölling), nach Dzierzowski und Rekowski¹⁾ die Diphtheriebazillen, nach Kuprianow²⁾ das *Spirillum Deneke*, nach Blachstein³⁾ das *Bact. coli*, ferner viele lange Milchsäurebazillen, wie z. B. nach v. Freudenreich und Thöny der *Bac. casei* α , nach Leichmann und Bazarewski das *Bact. casei* I—III, nach Bertrand und Weißweiler der *Bac. bulgaricus* (in Milch); auch nach Schattenfroh⁴⁾ der *Bac. des malignen Ödems* und der „denaturierte“ Rauschbrand- und Buttersäurebazillus.

Inaktive Milchsäure erzeugen zunächst lange Bazillen, wie der *Saccharobacillus pastorianus*, der das Umschlagen des Bieres bewirkt (van Laer, Henneberg), der *Bac. bulgaricus* nach Bertrand und Duchacek in künstlichen Zuckerlösungen, dann Streptokokken, wie das „*Bact. lactis acidii*“ (Henneberg), das „*Bact. Güntheri* var. *inactiva*“ aus sauren Gurken (Aderhold⁵⁾), der *Bac. casei* ε (von Freudenreich und Thöny), der *Enterokokkus* (Tissier und Gasching⁶⁾), ferner der Typhusbazillus (Cathélineau⁷⁾), der *Bac. acidii lactici* (Blumenthal⁸⁾), die Cholera- und Massauaspirillen (Rontaler⁹⁾).

Linksmilchsäure bilden nach Gosio¹⁰⁾ und Kuprianow (s. o.) die meisten Spirillen, auch die der Cholera, nach Leichmann, Henneberg, Beijerinck die langen Bazillen der Brennereimaischen (*Bac. Delbrückii*, *longissimus*) und der sauren Milch (*Bac. lactis acidii*, *caucasicus*), nach Leichmann¹¹⁾ der *Micr. acidii laevolactici*, nach den meisten Forschern (Tate¹²⁾, Grimbert¹³⁾, Leichmann¹⁴⁾, Kozai, Thiele, Harden) der

1) Kochs Jahresber. 1892. 66.

2) Arch. f. Hyg. 19.

3) Zentr. Bakt. 16. 862.

4) Arch. Hyg. 48, vgl. § 113.

5) Kochs Jahresber. 1899. 182.

6) Annal. Pasteur 1903. 8.

7) Bei Duclaux 4. 163.

8) Virchows Arch. 146.

9) Arch. f. Hyg. 22.

10) Ebenda 21 und 22.

11) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 777.

12) Kochs Jahresber. 1893. 191.

13) Annal. Pasteur 1895.

14) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 446.

Bac. aërogenes, *pneumoniae* und seine Verwandten, der *Bac. coli*, Typhusbazillus (Blachstein, van Ermenghem und van Laer¹), Harden), der Paratyphusbazillus (Pottévin), schließlich auch der Pestbazillus (Gosio und Biginelli²)).

Sieht man sich die Liste an, so findet man verschiedene Widersprüche bzw. auffallende Beobachtungen. So weichen die Befunde bei den Enterokokken, den Aderholdschen Gurkenbakterien, dem *Bact. lactis acidii* (Henneberg), obwohl diese Bakterien in die Nähe des *Streptococcus lacticus* gehören, von den gewöhnlichen dadurch ab, daß sie nicht Rechtsmilchsäure ergaben, umgekehrt entsprechen die Ergebnisse beim *Bact. casei*, *Saccharobac. pastorianus*, *Bac. bulgaricus* nicht den sonst bei den langen Milchsäurebazillen, zu denen sie gehören, üblichen Funden von Linksmilchsäure. Ebenso stimmen schließlich die Ergebnisse bei Typhus-, Coli-, Aërogenesbazillen und Spirillen nicht überein. Manche dieser Widersprüche werden sich wohl daraus erklären, daß die einzelnen Forscher mit verschiedenen Bakterien arbeiteten, daß es also z. B. wirklich Rassen oder Abarten oder „Arten“ von Streptokokken gibt, die inaktive oder Linksmilchsäure bilden, und solche des langen Milchsäurebazillus, die inaktive oder Rechtsmilchsäure entwickeln. Durch die erstere Annahme würde unseres Erachtens besser das so häufige Vorkommen von inaktiver Milchsäure bei der freiwilligen Gärung der Milch (s. o.) erklärt werden, als durch die vielfach ausgesprochene, aber nicht genügend durch Beobachtungen belegte Vermutung, daß die gewöhnlich Linksmilchsäure erzeugenden Bakterien der Aërogenesgruppe daran schuld seien. Die Rassenbildung zeigt sich übrigens auch in dem Schwanken anderer Merkmale deutlich genug (Verhalten zu der Temperatur (§ 101), zu den Zuckerarten (§ 100) usw.). Was die Colibazillen anlangt, so hat Péré³) die Varietätenbildung bei ihnen in der Tat bewiesen, indem er fand, daß sie sich je nach ihrem Ursprung entgegengesetzt verhielten, die Colistämme aus dem Darne der Erwachsenen und Kinder nämlich Linksmilchsäure, aus dem der Haustiere und Säuglinge Rechtsmilchsäure in Glykoselösungen bildeten.

Teilweise müssen die verschiedenen Ergebnisse aber auch auf die Beschaffenheit des Nährbodens und der Wachstumsbedingungen zurückgeführt werden. So zeigte Péré⁴), daß ein Stamm des *B. coli* aus Traubenzucker rechtsdrehende, aus Frucht-

1) Bei Duclaux.

2) Bei Emmerring, vgl. Anm. 2 auf S. 293.

3) Compt. rend. soc. biol. 1896. 446.

4) Annal. Pasteur 1892 und 93.

zucker inaktive Säure produzierte, ein anderer aus Glykose Rechts- säure, aus Galaktose, Mannose und Mannit Linkssäure, aus Arabinose mehr links- als rechtsdrehende, aus Rohrzucker mehr rechts- als links- drehende, aus Milchzucker gleiche Teile davon, also inaktive Säure erzeugte. Ein dritter Stamm schließlich bildete aus allen Zuckerarten Linksmilchsäure. Ebenso fand H e n n e b e r g ¹⁾, daß der Bac. lactis acidi (W e i g m a n n) nur aus Milchzucker Rechtsmilchsäure, aus allen anderen Zuckerarten Linksmilchsäure bildete. Für eigentümliche Ein- flüsse der Stickstoffernährung spricht die Erfahrung, die B e r t r a n d und D u c h a c e k beim Bac. bulgaricus machten. In Milch erzeugte er neben großen Mengen inaktiver Säure etwas Rechtsmilchsäure, in künstlich zusammengesetzten Zuckernährböden (auch Milchzucker) stets nur inaktive Säure. Sehr wichtig erwies sich auch für manche Arten von Colibazillen die Form der Stickstoffnahrung. Aus Glykose entstand nach P é r é bei Darreichung der schlechter nährenden Ammo- niaksalze Linksmilchsäure, bei Ernährung mit Pepton aber Rechts- säure. Eine neuere Versuchsreihe ergab P é r é ²⁾, daß ein und derselbe Colistamm nicht nur die drei verschie- denen Formen der Milchsäure bildete, wenn ihm verschiedene Zuckerarten zur Vergärung dar- geboten wurden, sondern sie auch aus einem ein- zigen Zucker erzeugen konnte, wenn ihm dieser unter wechselnden Bedingungen geboten wurde.

Die Ergebnisse waren folgende:

A.		
Nährlösung	Zucker, Kohlehydrat oder Alkohol	10 g
	Pepton	3 g
	Kalziumkarbonat	6 g
	Wasser	200 g
Temperatur 38°.		

1. Glykose: Mischung von inaktiver und rechtsdrehender Säure.
2. Mannose: Inaktive Säure.
3. Galaktose: „ „
4. Arabinose: Linksmilchsäure in kleiner Menge.
5. Saccharose: etwas inaktive und viel Rechtsmilchsäure.
6. Laktose: Linksmilchsäure.
7. Mannit: „
8. Dulzit: „
9. Glyzerin: „

Diejenigen Stoffe, die am schlechtesten vergoren werden, scheinen Linksmilchsäure, die mäßig an- gegriffen werden, inaktive, die am besten vergore-

1) K o c h s Jahresber. 1903. 314.

2) Annal. Pasteur 1898.

nen, Rechtssäure zu liefern. Die folgenden Versuche bestätigten das aber nicht. Auch fand Pottevin (S. 326) umgekehrt bei Hemmung der Gärung durch den Paratyphusbazillus Rechtsmilchsäure, bei ungehinderter Gärung inaktive Milchsäure.

B.

Dieselbe Menge des Gärmaterials wird mit wechselnden Zusätzen von stickstoffhaltigen Substanzen bei verschiedener Temperatur und teilweise mit antiseptischen Zutaten vergoren:

- a) Glykose: 1. Zusammensetzung wie bei A. Temperatur aber 25°: Mischung inaktiver und linksdrehender Säure.
 2. wie bei A, aber nur der 10. Teil Pepton: Linksmilchsäure.
 3. wie bei A, statt Pepton aber Ammoniaksalz: Linksmilchsäure.
- b) Mannose: 1. wie bei A, aber Zusatz von 0,05% Karbolsäure: Rechtsmilchsäure.
 2. wie bei A. Temperatur aber 25°: Etwas inaktive und viel Rechtsmilchsäure.
 3. wie bei A, aber nur der 10. Teil Pepton: Inaktive mit etwas Rechtssäure.
 4. An Stelle des Peptons Ammoniaksalz: Linksmilchsäure.
- c) Saccharose gibt unter ähnlichen Verhältnissen nur Rechtsmilchsäure.

Eine Regel ist aus diesen Feststellungen kaum abzuleiten. Man sieht vielmehr, wie wenig geklärt die ganze Frage noch ist. Die Arbeiten anderer Forscher bestätigen diesen Satz nur¹⁾. Wenn auch vielleicht nicht alle Milchsäurebakterien so schwankende Verhältnisse zeigen, wie das *B. coli*, so wird man doch jedenfalls die Beschaffenheit der Milchsäure nicht als ein wichtiges Artcharakteristikum betrachten können. Manche Tatsachen, wie z. B. die Beobachtung von Kayser, daß das Drehungsvermögen der „reinen“ Rechts- und Linksmilchsäure gegenüber dem polarisierten Lichtstrahl erheblich schwankt (s. u.), legen die Vermutung nahe, daß wir es überhaupt nicht mit reinen Stoffen, sondern stets mit Mischungen zu tun haben. Wie wir uns die so ungleich verlaufende Spaltung des Zuckers stereochemisch vorzustellen haben, darüber fehlt uns bisher jeder Anhaltspunkt. Sicher unrichtig ist die Annahme, die von manchen Seiten gemacht wird, daß das Zuckermolekül stets in gleiche Mengen Rechts- und Linksmilchsäure, also in inaktive Säure gespalten werde, und daß erst durch Verbrauch der einen oder anderen Modifikation seitens der Mikroorganis-

1) Vgl. Tate, Kayser, Pottevin a. a. O., ferner Cathélineau, van Ermengem usw. Kozai konnte übrigens ebenso wenig wie Harden eine Abhängigkeit der Gärprodukte von der Art der Stickstoffernährung beobachten.

men — wie bei der Weinsäure u. a. m. (§ 58) — die optisch wirksamen Bestandteile in die Erscheinung treten. Ein solcher Verbrauch ist zwar von P é r é für den Bac. coli behauptet worden, ist aber jedenfalls nicht die Regel, im allgemeinen wird die von den Bakterien gebildete Milchsäure vielmehr gar nicht oder erst in späteren Stadien, vielleicht unter dem Einfluß des Sauerstoffs von ihnen angegriffen (K a y s e r).

Einige kurze Bemerkungen über die Darstellung und die Eigenschaften der Milchsäure mögen hier Platz finden. Die Gärflüssigkeit wird auf dem Wasserbad zum Sirup eingedampft, der Rückstand unter Zusatz von etwas Phosphorsäure wiederholt und reichlich mit Äther ausgezogen, die nach Verjagen des Äthers verbleibende Flüssigkeit in Wasser gelöst, mit überschüssigem Zinkoxyd oder Zinkkarbonat gekocht, mit Tierkohle entfärbt zur Kristallisation eingedampft und dann an der Luft langsam getrocknet. Das inaktive Zinklaktat hat die Zusammensetzung $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$ und enthält 27,27% ZnO und 18,17% Kristallwasser. Es löst sich bei 15° in 53 Teilen Wasser, gar nicht in Alkohol. Die Zinksalze der aktiven Säuren enthalten nur 2 Moleküle $H_2O = 12,9\%$ Kristallwasser und 29,0% Zinkoxyd, sie lösen sich schon in 17,5 Teilen Wasser und in 1100 Teilen Alkohol. Das Kristallwasser wird durch Trocknen bei 110° bestimmt. Theoretisch wäre es möglich, durch seine Bestimmung oder durch die spezifische Drehung den prozentischen Gehalt des Präparats an aktivem und inaktivem Salz zu ermitteln. Beide Verfahren begegnen aber Schwierigkeiten. Gewöhnlich bedient man sich der Drehung im Polarisationsapparat. Die Drehung der aktiven Salze ist sehr schwach und soll nach F r e s e n i u s u. a. mit steigender Konzentration sich vermindern, die Zinksalze drehen in umgekehrtem Sinne wie die freien Säuren, das rechtsmilchsaure Salz also links, das linksmilchsaure rechts. K a y s e r bestimmte die spezifische Drehung des Zinksalzes der Rechtsmilchsäure für die Konzentration

von 1,72 %	auf 7° 45',
3,476 %	„ 7° 54',
3,796 %	„ 8° 20'.

Die für Röhren von 20 cm Länge beobachteten Ausschläge betrugen dabei nur 16, 33 und 38 Minuten. Die für das Drehungsvermögen gefundenen Werte schwankten aber in seinen zahlreichen Versuchen sehr bedeutend, 6° 50' war das Minimum, 16° 43' das Maximum; Zahlen über 10° wurden nicht selten gefunden. Die Berechnung des Gehaltes an den verschiedenen Säuren steht also auf recht schwankenden Füßen. Man wird sich wohl begnügen müssen, nur stärkere Ausschläge als beweisend zu betrachten. Prozentisch anzugeben, wieviel inaktive der aktiven Säure beigemischt ist, und ob eine solche Beimischung ganz fehlt, ist unmöglich; auch die Feststellung des Kristallwassergehaltes genügt dazu kaum, da ein Teil des Kristallwassers schon bei gewöhnlicher Temperatur verloren zu gehen scheint. Eine Kontrolle für die Reinheit der dargestellten Salze bietet der Gehalt an ZnO, der durch Veraschung festzustellen ist (33,3% des bei 110° getrockneten Präparats).

Die Trennung der Milchsäure von daneben vorhandener Bernsteinsäure gelingt nach B e i l s t e i n (Zeitschr. f. analyt. Chem. 21) in der Weise, daß man die saure Lösung der Ätherrückstände mit schwacher Kalilösung neutralisiert und im Kochen mit Bariumazetat versetzt. Der Niederschlag

enthält sämtliche Bernsteinsäure, deren Menge durch den damit verbundenen Baryt bestimmt wird. In dem Filtrat wird nach P a l m (ebenda 22 und 26) die Milchsäure mit Bleiessig und alkoholischem Ammon als basisches Bleisalz gefällt und dann als Zinksalz charakterisiert. Man kann auch die Bernsteinsäurebildung schon an den Kristallen erkennen, die sich bei der Verdunstung der in wenig Wasser gelösten Ätherrückstände auf der sirupigen Flüssigkeit (Milchsäure) ausscheiden und von dieser durch Filtrieren und Auswaschen mit konzentriertem Bernsteinsäurewasser trennen.

§ 103. Die anaërobe Essigsäuregärung oder essigsäure Gärung der Kohlehydrate¹⁾. Selbst bei der reinen Milchsäuregärung, wie sie K a y s e r, P o t t e v i n, L e i c h m a n n, B e i j e r i n c k, H e n n e b e r g studiert haben (§ 99), werden geringe Mengen von Nebenerzeugnissen, und zwar vor allem flüchtige Säuren gebildet²⁾. Nach P o t t e v i n waren es Spuren von Ameisensäure (§ 108), nach K a y s e r u. a. neben Kohlensäure und Alkohol (§ 104) in erster Linie Essigsäure. Je nach der Eigenart der Mikroorganismen, der Zusammensetzung des Nährbodens, der Dauer der Gärung und dem Einfluß des Sauerstoffs auf die Gärung fand K a y s e r³⁾ große Schwankungen in dem Verhältnis zwischen Milch- und Essigsäure. Bei 12 seiner Bakterien schwankte dasselbe z. B. in 5 prozentiger Milchzuckerpeptonlösung zwischen 22,5 und 7,5 : 1, d. h. die Essigsäure trat hier sehr hinter der Milchsäure zurück. Nur ein Bakterium, das er selbst als *Bac. aërogenes* (s. u.) bezeichnet, zeigte das Verhältnis 0,8 : 1, wäre also schon besser als Essigsäurebakterium zu bezeichnen. Die Bedeutung des Nährbodens trat in einer zweiten Versuchsreihe zutage. In Milch mit Peptonzusatz erzeugten die meisten Bakterienarten allerdings auch noch mehr Milch- als Essigsäure, doch nicht in dem großen Überschuß, wie in der Milchzuckerlösung. Der oben erwähnte *Bac. aërogenes* bildete neben Essigsäure nur noch 2% Milchsäure, erzeugte also fast reine Essigsäuregärung, bei einigen anderen näherte sich das Verhältnis zwischen den beiden Säuren der Einheit und ging noch darunter hinab: es verdienten also in diesem Nährboden schon mehr Mikroorganismen den Namen von Essigsäurebakterien.

1) Über die Darstellung der flüchtigen Fettsäuren aus Gärungsgemischen vgl. O. J e n s e n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 13, 1904. Am besten hat sich ihm wie uns die D u c l a u x sche Destillationsmethode bewährt.

2) Über Essigsäurebildung bei der natürlichen Milchsäuregärung s. K o z a i, Zeitschr. f. Hyg. 38. 395, 1901. Je länger sie dauert, desto mehr Essigsäure entsteht. Vgl. auch bei O. J e n s e n (Anm. 1) die flüchtige Säure im Käse.

3) Annal. Pasteur 1894 und K o c h s Jahresber. 1904. 320. In der zweiten Arbeit, die 4 grampositive Bakterien betrifft, schwanken die erhaltenen absoluten und Verhältniszahlen noch bedeutender. Hier genaue Angaben über die Befunde in den einzelnen Zuckerarten.

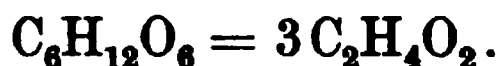
Folgende Übersicht gibt das Verhältnis zwischen der Milchsäure- und Essigsäuremenge auch noch für eine dritte Nährlösung an.

Bakterien	5% Milchzucker + 2 Pepton	Milch + Pepton	5,6% Maltose + 2% Pepton
a	19,1	5,0	—
b	9,7	2,4	13,7
c	18,7	3,9	—
d	12,1	0,5	0,85
e	7,5	2,5	2,40
f	0,8	0,02	—
g	21,6	8,0	17,6
h	12,8	1,9	2,7
l	12,1	1,1	—
m	9,3	4,6	17,5
n	16,2	5,3	14,5
o	22,5	6,4	14,3
p	13,7	6,5	11,9

Wenn K a y s e r Kulturen desselben Bakteriums, aber verschiedenen Alters untersuchte, fand er in vielen Fällen das Verhältnis zwischen den fixen und flüchtigen Säuren im wesentlichen beständig, in anderen ziemlich veränderlich. Ausnahmsweise groß war die Veränderung bei dem Streptokokkus der infektiösen Enterentzündung. Während hier nach 4 Tagen mehr Milchsäure als Essigsäure gebildet war, kehrte sich später das Verhältnis um, bis schließlich nur noch Spuren von Milchsäure nachweisbar waren. Gleichzeitig stieg die Menge der Essigsäure auch absolut. Es liegt nahe, hier eine U m w a n d l u n g d e r M i l c h s ä u r e i n E s s i g s ä u r e anzunehmen und dabei an eine Einwirkung des Sauerstoffes zu denken.

Daß der Z u t r i t t d e r L u f t auch sonst nicht gleichgültig ist, lehren umfangreiche Versuche K a y s e r s. Manche seiner Bakterien bilden freilich unter aëroben wie anaëroben Bedingungen gleichviel oder nahezu gleichviel Milch- und Essigsäure, häufig wurde aber durch den reichlichen Sauerstoffzutritt das Verhalten beider Säuren zugunsten der Essigsäure verändert. Möglicherweise findet dabei eine teilweise Oxydation der Milchsäure statt. Freilich braucht das nicht notwendig der Fall zu sein, man könnte sich auch vorstellen, daß die Fähigkeit der Spaltung des Zuckers zu Essigsäure, oder wenn wir wollen, das Enzym dieser Gärung sich besser entwickelt, wo Sauerstoff reichlich geboten wird. Notwendig ist der Sauerstoff jedenfalls nicht zur Entstehung der Essigsäure, man hat also ein volles Recht, diese Gärung als anaërobe Essig-

säuregärung zu bezeichnen und sie dadurch zu trennen von der Verbrennung des Alkohols zu Essigsäure, die wir gewöhnlich als Essigsäuregärung bezeichnen (§ 135). Die einfachste Formel, nach der wir uns die Bildung der Essigsäure vorstellen können, ist (vgl. § 98)



Möglich wäre die Entstehung der Säure auch, wenn wir uns das Wasser gespalten und den Kohlestoff des Zuckermoleküls durch seinen Sauerstoff teilweise oxydiert dächten, z. B. nach der Gleichung



Dabei würden aber immer reichliche Mengen Gas, nämlich in dem Verhältnis von 2 Teilen Wasserstoff zu 1 Teil Kohlensäure, auftreten, was tatsächlich aber nur bei den weiter unten zu besprechenden Milchsäure-Essigsäuremischgärungen der Fall ist. Wir werden deshalb der ersten Formel den Vorzug geben, um so mehr, da, selbst wenn eine Entwicklung von Gas nachweisbar ist, dessen Menge nicht in einem bestimmten Verhältnis zur Essigsäuremenge zu stehen pflegt (s. u. § 105).

Zu bedauern ist, daß K a y s e r, der sicher unter seinen Bakterien viele Streptokokken und auch lange Milchsäurebazillen gehabt hat, diese nicht in reiner Milch auf Essigsäurebildung geprüft hat. Die meisten übrigen Forscher, die das getan haben, fanden bei der Vergärung der Milch durch diese energischen Milchsäurebakterien nur kleine Mengen von Essigsäure, so z. B. B e r t r a n d und W e i ß w e i l l e r (S. 297, Anm. 1) beim *Bac. bulgaricus* 50 mal soviel Milch- wie Essigsäure. Das Verhalten der übrigen Zuckerarten bei diesen, namentlich den Streptokokkengärungen, verdient überhaupt noch genauer festgestellt zu werden. Für die langen Bazillen entnehmen wir der Arbeit H e n n e b e r g s, daß sie auch aus Rohrzucker nur wenig oder gar keine flüchtige Säure bilden. Der vielleicht hierher gehörige *Bac. manniticus* von G a y o n und D u b o u r g (S. 291) erzeugt dagegen ziemlich beträchtliche Mengen aus Glykose, Galaktose und namentlich Saccharose.

Zu den Essigsäurebakterien im hier besprochenen Sinne gehört vor allen Dingen, wie wir früher sahen, die ganze Verwandtschaft des *Bac. aërogenes*, d. h. unsere dritte Gruppe der Milchsäurebakterien, wir haben die Literatur darüber schon S. 300 angeführt und erinnern hier nur daran, daß je nach der Eigenart des Stammes und der Beschaffenheit des Zuckers bald mehr, bald weniger Essigsäure neben oder anstatt der Milchsäure gebildet wird. Von einer reinen (anaëroben)

essigsäuren Gärung darf allerdings nur selten gesprochen werden, da gewöhnlich mit ihr eine alkoholische und zum größten Teil auch eine Wasserstoffgärung einhergeht, oder auch, wie bei den pathogenen Typhus-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen, andere flüchtige (Ameisensäure) oder auch nicht flüchtige Säuren (Bernsteinsäure) beigemischt sind. Wie wir im folgenden § 104 sehen werden, ist die Bildung der Ameisensäure neben der Essigsäure und dem Alkohol deswegen wichtig, weil sie vielleicht gestattet, eine andere einfache Gleichung für die Entstehung der Essigsäure aufzustellen. Es ist nämlich:



Verhältnismäßig am wenigsten Essigsäure entsteht durch die nicht genau genug beschriebenen, von Frankland und seinen Mitarbeitern aber biochemisch gründlich studierten *Bac. ethaceticus* und *ethacetosuccinicus*, die uns in den folgenden (§§ 104, 105, 107, 108, 131 näher beschäftigen werden, ferner bei der Vergärung des Traubenzuckers (Harden¹⁾), vielleicht aber auch des Milchzuckers (Leichmann²) durch die Bakterien, die sich in ihren sonstigen Eigenschaften dem *Bac. aërogenes* und *coli* nähern, aber durch die Zusammensetzung der von ihm gebildeten Gase und die nicht seltene Verflüssigung der Gelatine dem *Bac. cloacae* verwandt sind, also zur 4. Gruppe der Milchsäurebakterien gehören (vgl. § 104 u. 105). Die Stelle der Essigsäure vertritt hier nach Leichmann die Bernsteinsäure (§ 107).

Die Essigsäure fehlt auch bei der Buttersäuregärung (§ 113 ff.) und Zellulosevergärung (§ 117) nicht, wir begegnen ihr ferner beim *Bac. aethylicus* (§ 104) und *formicicus* Omelianskys (§ 140). Daß auch andere Vertreter der Säurelabakterien als die Anaerobier und der *Bac. cloacae* hierher gehören, ist wahrscheinlich.

Unter den Heubazillen der Milch gibt es nach Kalischer³) solche, die Milch- und noch mehr Traubenzucker, sowie Glyzerin (§ 131) und Milchsäure (§ 142) unter Bildung von Essigsäure und Ameisensäure angreifen. Milchsäure fehlte, Buttersäure war zweifelhaft, Baldriansäure auch vorhanden, aber wahrscheinlich aus Eiweiß entstanden. Obwohl die Heubakterien strenge Aerobier sind und den größten Teil des Zuckers wohl unmittelbar verbrennen (§ 123), sind sie zur Spaltung des Zuckers in Essigsäure imstande, können also wahrschein-

1) Journ. of hyg. 1905.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5, 1899.

3) Arch. f. Hyg. 37.

lich ihr Ferment (in ähnlicher Weise wie die Hefezellen die Zymase) nur bei Sauerstoffzutritt bilden. Auch fakultative Anaërobier, die den Milchzucker sogar unter Gasbildung vergären, sind aber unter den Heubazillen der Milch, wenn auch selten zu finden (D u c l a u x, F l ü g g e ¹⁾). Die dabei gebildeten Säuren sind aber noch nicht genügend untersucht. Über den aëroben, sporenbildenden B a c. b o o c o p r i c u s E m m e r l i n g s, der aus Glykose und Laktose Milchsäure und Äthylalkohol, aus Glyzerin aber Essigsäure, Buttersäure, Methylalkohol usw. bildet, vgl. die Vergärung des Glyzerins (§ 131). Der stickstoffbindende Bac. asterosporus bildet nach B r e d e m a n n ²⁾, abgesehen von nicht untersuchten fixen Säuren aus Trauben- und Rohrzucker hauptsächlich Essigsäure, daneben Spuren von Ameisen- und höheren Säuren, ferner aldehydartige Verbindungen.

Von einem Enzym der anaëroben Essigsäuregärung („Glukazetase“, E. B u c h n e r) wissen wir vorläufig nichts, wenn wir von den bei der Zymasegärung gemachten Beobachtungen (S. 264) absehen. Manches spricht dafür, daß auch hier die Poly- und Disaccharide nicht durch besondere hydrolytische Enzyme für die Gärung vorbereitet zu werden brauchen.

§ 104. Alkoholische Gärung durch Bakterien. Nicht ganz so häufig wie die Essigsäure ist der Alkohol ein Nebenerzeugnis der Milchsäuregärung³⁾. Selbst bei der reinen Milchsäuregärung (§ 99) durch die Streptokokken⁴⁾ und langen Bazillen⁵⁾ ist er häufig, wenn auch meist nur in Spuren gefunden worden. In anderen Fällen spricht der Nachweis der Entwicklung von reiner Kohlensäure als einziges Gas für die gleichzeitige Bildung von Alkohol. Derartige Befunde sind gar nicht selten gemacht worden, z. B. von L e i c h m a n n ⁶⁾

1) Zeitschr. f. Hyg. 17. 293.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 22. 88, 1908.

3) Über Alkohol bei der freiwilligen Milchsäuregärung s. K o z a i, Zeitschr. f. Hyg. 38. 395, 1901.

4) Nach K a y s e r s erster Arbeit (S. 312, Anm. 3) beträgt der Alkoholgehalt höchstens 3—4% der Milchsäure, nach seiner zweiten aber bis 50%. Mit Recht bezweifelt L e i c h m a n n (Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 344, 1899), daß die Jodoformreaktion allein für den Nachweis der Alkoholgärung genüge, weil auch frische Milch bei der Destillation solche gebe. Was den Kohlensäurenachweis angeht, so wird er wohl öfters dadurch erschwert, daß die geringen Gasmengen sich im Nährboden lösen. Andererseits kann bei gleichzeitiger Gegenwart von kohlensaurem Kalk im Nährboden auch durch die Bildung anderer Säuren Kohlensäurebildung vorgetäuscht werden.

5) Z. B. bei Saccharobac. pastorianus und Bac. L i n d n e r i (Henneberg).

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 777.

beim *Micr. (Strept.) acidilactici*, beim *Bact. pabuli acidilactici* III Weiß¹⁾, dem *Lactobac. fermentum Beijerinckii*²⁾. In letzterem Falle wird reichlich Kohlensäure gebildet, ebenso beim *Bac. mannicus*, der wohl auch zu den langen Bazillen gehört. Gayon und Dubourg haben, wie wir schon S. 291 sahen, bei diesem Bazillus alle bei der Gärung entstandenen Stoffe vollständig untersucht und dabei ungefähr gleichgroße Mengen Alkohol und Kohlensäure gefunden³⁾. Das spricht dafür, daß bei diesen Bakterien die bekannte Formel für die alkoholische Gärung



Geltung besitzt. Wie bei der Gärung durch Hefe verfallen hier auch die Pentosen nicht der Zersetzung. Von den Disacchariden wird ferner der Milchzucker am wenigsten angegriffen. Trotzdem sind wir weit von völliger Übereinstimmung der beiden Gärungen entfernt, können also auch nicht das gleiche Gärungsenzym für beide annehmen, denn der *Bac. mannicus* vergärt die Fruktose überhaupt nicht zu Alkohol, sondern zu Mannit (§ 124) und die Disaccharide auch nicht nach vorhergehender Hydrolyse, sondern unmittelbar. Außerdem greifen andere lange Bazillen auch Pentosen an (S. 300).

Es darf übrigens nicht verschwiegen werden, daß es neben den genannten Fällen, in denen mehr oder weniger reichlich alkoholische Gärung hervorgerufen wird, auch andere gibt, in denen sie nicht nachgewiesen werden kann. Für den *Streptococcus lacticus* betonen das z. B. Leichmann und Pottvin (§ 99), für die langen Bazillen der Brennereimaische (*Bac. Delbrückii*) Henneberg, für den *Bac. bulgaricus* Bertrand und Weißweiler.

Fast regelmäßig wird dagegen Alkohol von der Gruppe des *Bac. aërogenes* gebildet. Wir haben die Literatur schon (S. 300 f.) aufgeführt, als wir von dem Verhalten der Milchsäurebakterien zu den einzelnen Zuckerarten sprachen. Es fragt sich, ob wir die alkoholische Gärung auch hier unter die Formel $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 2\text{C}_2\text{H}_5\text{O} + 2\text{CO}_2$ bringen dürfen.

1) Koch's Jahresber. 1900, 198.

2) Zeitschr. f. Spiritusind. 1901.

3) Kayser findet allerdings in seiner zweiten Arbeit bei seinem Kokkus Nr. 1 meist erheblich mehr Kohlensäure als Alkohol. Wenn die Bestimmungen richtig sind, so muß man hier nach einer anderen Quelle der Kohlensäurebildung suchen. Da in den Versuchen Oxydationen durch Luftsauerstoff ausgeschlossen waren, könnte die Kohlensäurebildung nur durch gleichzeitige Bildung reduzierter Körper, wie z. B. der Propionsäure oder des Mannits aus dem Zucker erklärt werden. In der Tat hat Kayser beide Stoffe neben Milchsäure und Essigsäure mehrfach nachgewiesen (s. u. § 109 u. 124), übrigens keine vollständigen Gärungsgleichungen aufzustellen versucht.

Die Schwierigkeiten sind hier erheblich größer, als bei den eben besprochenen „echten“ Milchsäurebakterien, weil vom *Bac. aërogenes* und seinen Verwandten bei Sauerstoffabschluß niemals neben dem Alkohol reine Kohlensäure, sondern immer eine in ihren Mengenverhältnissen wechselnde Mischung von Kohlensäure und anderen Gasen, nämlich Wasserstoff gebildet, außerdem gewöhnlich nicht nur Hexosen und Disaccharide, sondern auch Pentosen und höhere Alkohole (Glyzerin, Mannit usw.) angegriffen werden.

Sehen wir uns zunächst einmal die Menge des Alkohols im Verhältnis zu der anderer Stoffe an. Nach Frankland¹⁾ und seinen Mitarbeitern Stanley und Frew, denen wir die ersten gründlichen Analysen verdanken, erzeugt der *Bac. pneumoniae* (Friedländer) — in Äquivalenten berechnet — fast doppelt soviel Alkohol aus Glykose (und Mannit § 131) als Essigsäure und etwas mehr Kohlensäure als Wasserstoff (13 : 10). Grimberts davon ganz abweichende Ergebnisse, die wir schon § 98 angeführt, beweisen, daß er einen völlig verschiedenen Bazillus in Händen hatte. Harden erhielt mit dem „*Bac. coli*“ in seiner ersten Arbeit (ebenda) ebenfalls etwas andere Resultate, nämlich außer viel Milchsäure gleiche Mengen Essigsäure und Alkohol, Kohlensäure und Wasserstoff, und zwar aus Glykose sowohl wie aus Fruktose, während aus Mannit und namentlich aus Glyzerin Alkohol im Überschuß gewonnen wurde (§ 131). Typhusbazillen erzeugten aus Glykose ähnliche Stoffe wie Kolibazillen, nur wurden die Gase durch Ameisensäure ersetzt, die bei den letzteren ebenso wie Bernsteinsäure nur in Spuren auftrat. Wir müssen hier gleich bemerken, daß Sera neuerdings in meinem Laboratorium²⁾ weder bei Typhus noch bei Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen Alkohol, sondern nur Essig- und Ameisensäure fand. Dieser auffallende Widerspruch bleibt also aufzuklären (s. u. § 108). Später³⁾ lieferte Harden den Nachweis, daß man zwei Typen von Aërogenes- und Coli- oder besser „Fäkalbakterien“ zu unterscheiden hat: der erste, häufigere bildet Alkohol und Essigsäure in annähernd äquimolekularen Mengen — genau genommen schwankt allerdings das Verhältnis zwischen 1,5 und 0,7:1. Der zweite Typus, zu der auch der Gelatine verflüssigende und daher einen Übergang zu der Gruppe der Säurelabbakterien (§ 97) bildende *Bac. cloacae* Jordans gehört, gibt ein Verhältnis von 3 bis 19:1, d. h.

1) Vgl. S. 300. Wir benutzen hier die ausführlichen Berichte in Kochs Jahresber. 1891 u. 1892.

2) Zeitschr. Hyg. 66, 1910.

3) Journ. of hygiene 1905, vgl. Kochs Jahresber.

einen großen Überschuß von Alkohol¹⁾. Leider unterließ H a r d e n hier die Bestimmung der Gase, aber es ist wahrscheinlich, daß seine beiden Gruppen sich auch durch ihre Gase unterscheiden, indem die *Bac. cloacae* und Verwandte neben Alkohol auch Kohlensäure in erheblichen Überschuß über Wasserstoff bilden (§ 105 u. 112). Eine Andeutung dieses Verhältnisses zeigten schon die obigen Analysen F r a n k l a n d s, und auch die von demselben Forscher angestellten Untersuchungen über die Produkte des vielleicht ebenfalls hierhergehörigen *Bac. ethaceticus* und *ethacetosuccinicus*, die freilich meist Mannit und Dulzit und nur nebenbei Glykose und Arabinose betreffen (vgl. § 131), sowie die ausführlichen Stadien P o t t e v i n s über die Paratyphusbazillen (§ 105) sprechen dafür, daß mit dem Alkohol die Kohlensäure zunimmt.

Kommen wir jetzt zurück zu der Frage nach der Bildungsweise des Alkohols, so gibt F r a n k l a n d auf Grund seiner Befunde verwickelte Formeln an, die alle Zersetzungsprodukte zusammenfassen (vgl. § 131). Weit einfacher sind die Gleichungen H a r d e n s. Wir haben schon S. 294 bemerkt, daß sie uns zu einfach erscheinen, und die Mannigfaltigkeit der im Vorstehenden mitgeteilten Analysen liefert den Beweis für diese unsere Auffassung. A. a. O. haben wir auch darauf hingewiesen, daß die so wechselnden Mengenverhältnisse zwischen den einzelnen Gärprodukten sich erklären lassen, wenn man mit D u c l a u x für jedes Erzeugnis möglichst besondere Teilgärungen annimmt. Dann liegt es aber am nächsten, für die Alkoholbildung zurückzugreifen auf die bekannte G a y - L u s s a c s c h e Formel, und die Entwicklung von Milchsäure und Essigsäure und Wasserstoff auf die schon in § 98 erwähnten und im § 99, 103 und 105 näher besprochenen einfachen Formeln zurückzuführen. Immerhin bestände die Möglichkeit, daß die von H a r d e n angegebene Gärungsgleichung wenn auch in etwas veränderter Form Existenzberechtigung besäße. Zunächst könnte man schon die H a r d e n s c h e Gleichung

I) $2C_6H_{12}O_6 + H_2O = 2C_3H_6O_3 + C_2H_4O_2 + C_2H_6O + 2CO_2 + 2H_2$
vereinfachen, indem man die Milchsäuregleichung von ihr abzieht. Es bliebe dann:

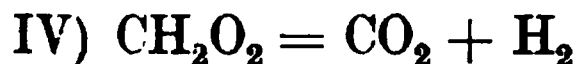


1) Die Menge des aus 1 Molekül vergorenen Traubenzuckers gebildeten Alkohols stieg dabei nur unbedeutend (von etwa 0,5 auf 0,7 Molekül), während die der Essigsäure (von 0,5 auf 0,05 Molekül) sank. Im besten Fall wurden nach 14 tägiger Bebrütung einer Lösung von 10 g Glykose, 5 g Pepton in 500 ccm Wasser (in Stickstoffatmosphäre mit Kreidezusatz) nicht mehr als 2 g Alkohol gewonnen.

Auch sie ist wohl noch nicht berechtigt, weil sie ein bestimmtes Verhältnis von Essigsäure und Alkohol voraussetzt, das in Wirklichkeit nicht zu bestehen scheint. Beseitigt man darum die Essigsäure, indem man die Formel II dreimal nimmt und von ihr die Gleichung der anaëroben Essigsäuregärung abzieht, so erhält man



Zunächst scheint diese Gleichung kaum einen Vorzug zu verdienen, denn sie setzt zwischen dem Alkohol und den Gasen ein feststehendes Verhältnis voraus, was die Analysen wieder nicht bestätigen. Ein anderes Gesicht bekommt dies allerdings, wenn man die schon von *Frankland* ausgesprochene und dann von *Harden* aufgenommene Vermutung sich zu eigen macht, daß Kohlensäure und Wasserstoff bei den uns hier beschäftigenden Gärungen im wesentlichen aus einer Spaltung der Ameisensäure nach der Formel



hervorgehen. Danach würde sich ergeben:



und natürlich entsprechende Abänderungen der Gleichungen I und II.

Nach den Mitteilungen *Hardens* schien es fast, als ob sich diese Umsetzung im Falle des Typhusbazillus verwirklichte. Durch die erwähnte Arbeit *Seras* ist das aber wieder zweifelhaft geworden. Trotzdem wird man vielleicht die Gleichung IIIa hin und wieder benutzen dürfen, um die Entstehung wenigstens eines Teiles des Alkohols, der Ameisensäure (§ 108) und — mit der Gleichung IV zusammen — der Gase (§ 105) zu erklären.

Daß die eigentliche alkoholische Gärung daneben ihr Recht behält, scheint uns aber namentlich durch die oben auseinandergesetzten Beziehungen zwischen Alkohol- und Kohlensäurebildung bewiesen zu werden.

Wenn wir im großen und ganzen geneigt sind, die Bildung des Alkohols aus dem Zucker uns auf dem von der Hefegärung her bekannten Wege zu deuten, so ist doch, wie schon oben bemerkt, nicht an eine Gleichheit des die Gärung verursachenden, vorläufig freilich nur angenommenen, Enzyms zu denken. Schon die vielfach beobachtete Hineinziehung der Pentosen und hochwertigen Alkohole in die Bakteriengärung macht das unmöglich, ebenso das ungleiche Verhalten der Hexosen und Disaccharide. Ein schönes Beispiel dafür bietet die Arbeit *Grimberts* über den *Bac. pneumoniae* (S. 292). Nach ihr entgeht gerade die durch Hefe leicht vergärbare Glykose, Maltose und Saccharose sowie die Arabinose der alkoholischen Gärung, während Galaktose, Laktose und Xylose ihr verfallen.

Auch die Säurelabbakterien (außer dem *Bac. cloacae*, s. o.) kommen teilweise als Alkoholbildner in Betracht, sind freilich daraufhin noch wenig studiert worden. Echte Alkoholgärung wurde vor allem beobachtet bei Anaërobiern. Sie hat deswegen ein besonderes Interesse, weil bei diesen die Äthylalkohol-Essigsäuregärung die Butylalkohol-Buttersäuregärung vertreten zu können scheint. So beschreibt *D u c l a u x*¹⁾ einen *Bac. (Amylobacter) aethylicus*, der dem *Amylobacter butylicum* in seinen sonstigen Eigenschaften durchaus entspricht²⁾. Das gleichzeitige Erscheinen des Alkohols mit 2 bzw. 4 Kohlenstoffatomen mit ihren zugehörigen Säuren ist wohl nicht als zufällig zu betrachten, da wir ihm sehr häufig begegnen. Allerdings wechselt das Mengenverhältnis zwischen Säure und Alkohol, wie wir schon sahen, sehr bedeutend, auch tritt gelegentlich Essigsäure ohne Alkohol und Buttersäure ohne Butylalkohol auf. Dennoch ist die Regel nicht zu verkennen. Die Erklärung dafür kann, wie *D u c l a u x* bemerkt, nicht etwa darin gesucht werden, daß die Säure durch Oxydation aus dem Alkohol entstehe, denn sie wird ganz in derselben Weise bei Abwesenheit freien Sauerstoffs beobachtet. Vielmehr ist es wahrscheinlich, daß die Spaltungen des Zuckers in Alkohol und Säure nicht ganz unabhängig voneinander verlaufen. Vielleicht haben die Enzyme³⁾, die einerseits den Alkohol, andererseits die Säure erzeugen, eine stereochemische Verwandtschaft. Man kann dabei wieder an den bekannten *F i s c h e r s c h e n* Vergleich mit Schlüssel und Schloß denken.

Für die Theorie *E. B u c h n e r s*, der den Alkohol bei der Hefegärung aus der Milchsäure entstehen läßt (§ 88), bieten die bei der Bakteriengärung gemachten Erfahrungen keine unmittelbare Stütze, widersprechen ihr sogar insofern, als wir hier Fälle kennen gelernt haben, wo sicherlich Alkohol, aber gar keine Milchsäure gebildet wird (*G r i m h e r t*, S. 292) und als es nicht gelungen ist, durch Bakterien Milchsäure in Alkohol überzuführen (§ 142).

§ 105. Wasserstoffgärung. So können wir das gleichzeitige Auftreten von Wasserstoff (und Kohlensäure), das bei den gemischten Gärungen durch die Bakterien der Aërogenes- (*Coli*-) und Säurelabgruppe recht häufig ist, nennen (S. 293). A. a. O. haben wir schon

1) Microbiol. 4. 197.

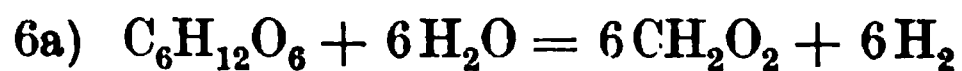
2) Vgl. § 115. Nach *S c h a t t e n f r o h* (Arch. Hyg. 48. 91) u. a. bilden die den Buttersäurebazillen nahe verwandten Ödem- und Fäulnisbazillen (*putrificus coli*) Äthylalkohol, allerdings neben Milchsäure und wenig flüchtigen Säuren (§ 113 ff.)

3) Über die Schwierigkeiten, die sich dem Nachweis gasbildender Enzyme bei Kolibazillen entgegenstellen, vgl. *K u h t z* am Ende des nächsten Paragraphen.

von der Möglichkeit gesprochen, sie abzuleiten aus einer Zersetzung nach der Formel (D u c l a u x)



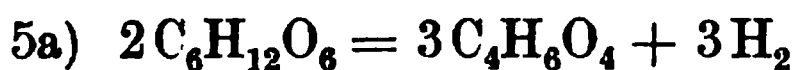
gleichzeitig aber auch erwähnt, daß diese Zersetzung, weil sie unter starker Wärmebindung verläuft, nicht denkbar ist außer Verbindung mit anderen Wärme entwickelnden Gärungen. In der Tat wird Wasserstoff (und Kohlensäure) nie allein gebildet, sondern regelmäßig in Begleitung von reichlichen, ja gewöhnlich überschießenden Mengen von Milchsäure (§ 100), Essigsäure (§ 103), Alkohol (§ 104). Die Beantwortung der Frage, ob und wo wir berechtigt sind, eine Wasserstoffgärung nach der obigen Formel anzunehmen, hängt allerdings davon ab, ob wir denn nicht noch andere Quellen des Wasserstoffs haben. In der Tat wird Wasserstoff (zu gleichen Teilen mit Kohlensäure) bei der Buttersäuregärung des Zuckers entwickelt (§ 114). Da die Bildung dieser Säure aber bei unseren Gärungen im allgemeinen ausgeschlossen ist, braucht sie nicht weiter berücksichtigt zu werden. Aus demselben Grunde fällt für uns hier die Vergärung der Milchsäure zu Buttersäure, Wasserstoff und Kohlensäure (§ 142) weg. Sonst käme noch die Propionsäure-, Glyzerin- und Mannitgärung des Zuckers (§ 106 und 109), sowie die Vergärung der Essigsäure und der Milchsäure (zu Propionsäure) in Betracht; bei ihnen wird aber nur Sumpfgas und Kohlensäure, kein Wasserstoff gebildet. Es bleiben noch übrig erstens die Vergärung der Ameisensäure nach der Formel $\text{CH}_2\text{O}_2 = \text{CO}_2 + \text{H}_2$. Wirklich ist sie von Frankland und Harden zur Wasserstofflieferung herangezogen worden (s. o. S. 320) und scheint nach den Versuchen Hoppe-Seylers, Pakes und Jollymans und Omelianskis auch unter gewissen Bedingungen durch dem *B. coli* nahestehende Bakterien bewirkt zu werden (§ 140). Ob sie bei den gemischten Vergärungen des Zuckers eine wesentliche Rolle spielt, ist aber keineswegs ausgemacht, da wir nicht sicher wissen, in welchen Mengen sich die Ameisensäure bei der Vergärung des Zuckers bildet. Nur dann könnte man mit Sicherheit davon reden, wenn man aus dem Studium der einzelnen Gärungsperioden ersähe, daß ursprünglich gebildete Ameisensäure später unter Gasbildung verschwände. Solche Untersuchungen fehlen aber. Möglich wäre die Bildung der Ameisensäure übrigens auf zwei Wegen (§ 108). Nur der eine, der gleichzeitig zur Alkoholbildung führt (vgl. Gleichung IIIa, S. 320) wäre besonders bemerkenswert, der zweite, auf dem neben Ameisensäure Wasserstoff entstünde,



würde gewissermaßen nur eine Strecke auf dem Wege zur vollständigen

Zersetzung des Zuckers in Wasserstoff und Kohlensäure nach unserer Gleichung 6 darstellen. Eine Entscheidung zwischen beiden Möglichkeiten und der dritten, die eben durch die letzte Gleichung gegeben ist, läßt sich vorläufig nicht fällen, umso weniger, da die Hauptstütze *Harden*s für diese Annahme, die Bildung von Alkohol und Ameisensäure in dem Verhältnis der Gleichung IIIa, die er beim Typusbazillus beobachtet haben wollte (S. 320), durch *Seras* Versuche nicht bestätigt worden ist (vgl. § 108).

Eine letzte Quelle des Wasserstoffs wäre durch die Bildung der Bernsteinsäure nach der Gleichung (§ 107)



eröffnet. Wenn sie vorkäme, würde sie aber doch nur in den Fällen, wo Bernsteinsäure überhaupt gebildet wird, in Betracht kommen. Es müßte daneben auch noch eine neue Kohlensäurequelle geschaffen werden, denn Wasserstoff allein tritt niemals auf und die Alkoholgärung genügt meist nicht, um die Menge der gefundenen Kohlensäure zu erklären (s. u.). Wir werden uns also nur aushilfsweise dieser Formel bedienen dürfen.

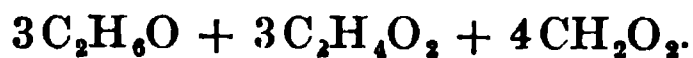
Man hätte die Berechtigung, aus dem Mengenverhältnis des bei einer Gärung entwickelten Wasserstoff- und Kohlensäuregases nach Ausschluß aller etwaigen Fehlerquellen auf die Zulässigkeit dieser oder jener Bildungsweise der Gase zu schließen. In allen Fällen z. B., wo die neugebildete Menge des Wasserstoffs und der Kohlensäure — dem Volumen nach¹⁾ — im Verhältnis von 2 : 1 steht, und keine Gärungserzeugnisse gefunden wurden, die wie der Alkohol (§ 103), das Glyzerin (§ 106), der Mannit (§ 106), die Propionsäure (§ 109), das Sumpfgas (§ 117), ebenfalls die Bildung von Kohlensäure bedingen²⁾, oder wie die Ameisensäure und Bernsteinsäure Wasserstoff erzeugen bzw. Kohlensäure verbrauchen, könnten wir danach ohne

1) Selbstverständlich muß dabei auch die Menge der nach ihrer Entwicklung in den Nährböden gelöst oder gebunden bleibenden und der etwa durch Säuren aus Karbonaten entbundenen Kohlensäure berücksichtigt werden, was nicht immer leicht ist. Umgekehrt besteht eine mögliche Fehlerquelle, die sich aber bisher kaum abschätzen läßt, in dem Verschwinden des Wasserstoffs durch Einwirkung auf andere in den Nährboden enthaltenen oder dort, z. B. aus Eiweiß, gebildete Stoffe. So soll nach *Harden* Asparaginsäure, als einzige Stickstoffquelle verabreicht, bei der Vergärung des Zuckers durch *B. coli* zu bernsteinsaurem Ammoniak reduziert werden. Aus Eiweiß bzw. Aminosäuren pflegt Wasserstoff gar nicht oder nur spärlich gebildet zu werden, um so reichlicher aber Kohlensäure (vgl. § 168 u. 179). Dort auch die Ausnahmen. Methoden s. § 221.

2) Von den Oxydationen durch den Luftsauerstoff, die sich durch die Versuchsanordnung leicht ausschließen lassen, sehen wir hier wieder ab.

weiteres unsere Wasserstoffgärung allein für die Gasentwicklung verantwortlich machen. Leider treffen diese Bedingungen aber anscheinend nur selten, ja streng genommen niemals zu, während umgekehrt eine Entwicklung von Kohlensäure allein durch einen oder den anderen oder mehrere der genannten Prozesse bei den Streptokokken und langen Milchsäurebazillen sogar die Regel ist (S. 316). Wir werden daher in den nach der Literatur nicht seltenen Fällen, wo das Verhältnis des Wasserstoffs zur Kohlensäure annähernd 2 : 1 ist, trotzdem ebenso wie in allen übrigen Fällen die Kohlensäure erzeugenden und verbrauchenden Vorgänge aufsuchen müssen. Bisher ist das nur in unvollkommenem Maße oder nur in einzelnen Fällen geschehen, so daß wir nur ausnahmsweise imstande sind, brauchbare Gärungsgleichungen aufzustellen. Die ersten Forscher, die überhaupt das Vorkommen einer Wasserstoffbildung durch Bakterien außerhalb der Buttersäuregärung nachwiesen und auch sonst gründlich genug untersuchten, *Frankland* und seine Mitarbeiter (S. 300), geben nur für die Zersetzung des Mannits und Dulzits durch die *Bac. pneumoniae*, *ethaceticus* und *ethacetosuccinius* Formeln, die wir später erörtern werden (§ 131). Doch berichten sie auch über die bei der Vergärung der Glykose und Arabinose erhaltenen Gase und anderen Stoffe so genau, daß man daraus Schlüsse ziehen kann. Aus 3 g Glykose erhielten *Frankland*, *Stanley* und *Frew* z. B. 150 g Gas, in dem auf 10 Teile Wasserstoff etwa 13 Kohlensäure kamen. Aus Arabinose (*Frankland* und *Mac Gregor*) wurden durch *Bac. ethaceticus* entwickelt etwa gleiche Teile Kohlensäure und Wasserstoff neben Alkohol, Essigsäure, Ameisensäure, etwas Bernsteinsäure und „einer unbekannten, in Äther unlöslichen, nicht flüchtigen Säure“, deren Vorhandensein übrigens nur aus der im kreidehaltigen Nährboden im Überschuß entwickelten Kohlensäure erschlossen wurde, und die wahrscheinlich nichts anderes als Kohlensäure war.

Wenn man sich mit den beiden Forschern vorstellt, daß die gesamte Gasmenge aus der Ameisensäure entstände, so kamen auf ein Molekül Kohlensäure als Äquivalent der unbekannten Säure:



Multipliziert man diese Größe mit 6 und löst die Ameisensäure in ihre gasförmigen Bestandteile auf, so erhält man:

6CO_2 als Äquivalente der unbekannten Säure + $18\text{C}_2\text{H}_6\text{O} + 18\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 + 24\text{CO}_2 + 24\text{H}_2$. Zieht man davon ab:

- | | |
|--|----------------------|
| I. $18\text{C}_2\text{H}_6\text{O} + 18\text{CO}_2 (= 9\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)$ | (Alkoholgärung), |
| II. $18\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 (= 6\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6)$ | (Essigsäuregärung), |
| III. $6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2 (= \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O})$ | (Wasserstoffgärung). |

so bleiben übrig IV. 12H_2 und 6CO_2 als Äquivalent der unbekannten Säure. Sind die von *Frankland* und *Mac Gregor* gefundenen Zahlen

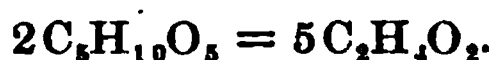
richtig, so müssen auch die 12H_2 und die Moleküle der unbekannten Säure, die 6CO_2 äquivalent sind, glatt aus der Vergärung des Zuckers hervorgehen; das ist aber nur möglich, wenn die unbekannte Säure nichts anderes als Kohlensäure selbst ist. In der Tat ist nach der Formel der Wasserstoffgärung $12\text{H}_2 + 6\text{CO}_2 = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O}$. I + II + III + IV ergeben also $17\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 12\text{H}_2\text{O}$, und man erhält nach Division durch 6 und Multiplikation mit 5, Umwandlung der Hexosen in Pentosen, und Zusammenziehung von III und IV:



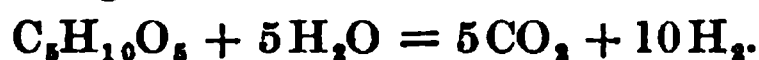
Wir würden vorziehen, diese empirische Formel aufzulösen in die Teilformeln der Alkohol-, Essigsäure- und Wasserstoffgleichung, die allerdings für die Pentosen etwas umgestaltet werden müßten und dadurch etwas von ihrer Einfachheit verlieren. Die Alkoholgleichung würde lauten:



Die Essigsäuregleichung:



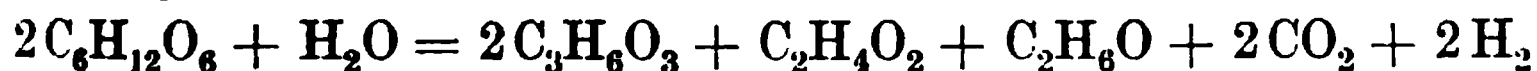
Die Wasserstoffgleichung:



Es ist leicht, diese neuen Formeln in die Gleichungen I—III, bzw. IV einzusetzen. — Wir verzichten darauf, da wahrscheinlich hier wie in anderen Fällen das Verhältnis der einzelnen Produkte bzw. der Teilgärungen zueinander nur ein zufälliges ist, d. h. bei neuen Versuche sich ändern würde. Aus der Erörterung folgt aber, daß man auch verwickelte Gärungen auf dem von uns beschrittenen Wege aufklären kann.

Während in diesem Falle das Verhältnis der Kohlensäure zum Wasserstoff 5 : 4 war, betrug es in anderen Versuchen, die Frankland und Lumsden mit dem Bac. ethaceticus an der Glykose anstellten, etwa 4 : 3, auch wieder unter der Voraussetzung, daß die „unbekannte Säure“ Kohlensäure war. Es kamen hierbei auf 1 Molekül der überschießenden Kohlensäure 2,2—2,8 Moleküle Alkohol, 1,6 Moleküle Essigsäure und 3,1 Moleküle Ameisensäure ($\text{CO}_2 + \text{H}_2$). Die tatsächlich gefundene Ameisensäure war in allen diesen Versuchen verhältnismäßig gering, nur in einem von vier anderen unter Luftzutritt ausgeführten Versuchen erreichte sie (als Molekül berechnet) fast die Menge der Essigsäure, so daß die Verfasser zu dem Schlusse kommen, daß die Ameisensäure weniger leicht bei Luftzutritt als bei Luftabschluß gespalten werde (vgl. § 108).

S. 294 haben wir schon gezeigt, daß die von Harden für die Vergärung der Glykose durch B. coli aufgestellte, mehrfach erwähnte Gleichung



auf die bekannten Formeln zurückzuführen ist, wenn wir noch die Milchsäuregärung zu Hilfe nehmen. Sie ist übrigens nur zufällig so einfach ausgefallen, denn in anderen S. 318 erwähnten Untersuchungen Har-

den s selbst, bei denen leider keine Gasanalysen gemacht wurden, wechselte das Verhältnis der Säure zum Alkohol und wahrscheinlich auch das der Gase zueinander. Denn in zahlreichen auf einfachem Wege erhaltenen Gasanalysen des *B. coli* (s. u. und § 112) überwog der Wasserstoff gewöhnlich die Kohlensäure um ein bedeutendes und wurde häufig — wohl nur zufällig der Wasserstoffgärung entsprechend — doppelt so reichlich entwickelt wie Kohlensäure.

Eine gründliche Untersuchung, die besonders gut in den Rahmen unserer Vorstellungen paßt, hat P o t t e v i n ¹⁾ für den Paratyphus und die verwandten Bazillen der Fleischvergiftung (Enteritidis), und Hogcholera geliefert. Nach ihm ist das Verhältnis des Wasserstoffs zur Kohlensäure bei der anaëroben Vergärung des Traubenzuckers zunächst 1 : 1, fällt dann aber im weiteren Verlauf auf 1 : 3. Die genauere Prüfung zeigt, daß das Maximum der Wasserstoffmenge sehr schnell gebildet wird, während die Kohlensäure ständig zunimmt. Gleichzeitig werden aber entsprechende Mengen Alkohol mehr gebildet. Man kann danach annehmen, daß die Wasserstoffgärung sehr bald zum Stillstand kommt, während die Alkoholgärung — und gleichzeitig die Milchsäure-, Essigsäure- und Bernsteinsäuregärung — fortschreitet. In der Tat stimmten die bei der Analyse für dieses Zersetzungsprodukt erhaltenen Zahlen sehr gut mit den für die Gärungen angenommenen Formeln überein. Z. B. wurden nach fünftägiger Gärung bestimmt:

Wasserstoff 349 ccm	= 0,027 g	} 4,28 g
Kohlensäure 321 ccm	= 0,609 g	
Alkohol	= 0,304 g	
Essigsäure	= 0,270 g	
Linksmilchsäure	= 2,750 g	
Bernsteinsäure	= 0,180 g	
Traubenzucker (von 27 g verbraucht)	= 4,110 g	

Wenn man hier von der Kohlensäure die dem gebildeten Alkohol entsprechende Menge abzieht, bleiben genau 2 Volumen Wasserstoff auf 1 Volumen Kohlensäure übrig, entsprechend der Formel der Wasserstoffgärung. Die übrigen Produkte entstehen ohne Gasentwicklung und Aufnahme von anderen Stoffen aus dem Zerfall des Zuckers. Nur die Bildung der Bernsteinsäure bleibt hier wie anderwärts²⁾ dunkel. P o t t e v i n möchte sie auf einen „intramolekularen Oxydations-

1) Annal. Past. 1905.

2) Vgl. auch die Versuche F r a n k l a n d s.

vorgang“ zurückführen (vgl. § 107). Daß die Summe der Gärprodukte größer ist, wie die des verbrauchten Zuckers, erklärt sich einfach daraus, daß der Zucker bei der Wasserstoffgärung einige Moleküle Wasser aufnimmt.

Wird in den bisher erwähnten Versuchen mit Bakterien der Aërogenes- und Coligruppe der Wasserstoff im Überschuß oder nur in wenig geringerer Menge als die Kohlensäure gebildet, so überwiegt in anderen Fällen, nämlich bei der Vergärung des Zuckers durch den *Bac. cloacae* und Verwandte mehr oder weniger erheblich die Kohlensäure. *Harden* hat, wie wir sahen (S. 318), den Beweis geliefert, daß dann auch die Alkoholgärung über die Essigsäuregärung verhältnismäßig stark überwiegt, ist uns freilich, weil er keine Gasanalyse anstellte, den Nachweis schuldig geblieben, daß, absolut genommen, die Wasserstoffbildung entsprechend gesunken ist. Es folgt das aber wohl schon aus den sonstigen Erfahrungen, die mit allerdings recht einfachen Hilfsmitteln gewonnen worden sind. Man hat nämlich (vgl. § 112) vielfach mit *Th. Smith* die Gärwirkung und Gaszusammensetzung der Coligruppe einerseits und der Gruppe des *Bac. cloacae* (*Jordan*¹⁾) oder *Bac. levans* (*Holliger*²⁾) andererseits in sogenannten Gärungsröhrchen beobachtet und dabei auch durch Absorption der Kohlensäure mittelst Kalilauge die ungleiche Zusammensetzung der von beiden Gruppen gebildeten Gase festgestellt. Auch die absolute Menge des Wasserstoffs scheint bei der zweiten geringer zu sein.

Die Säurelabbakterien (außer dem *Bac. cloacae* und *levans*), wie z. B. der *Bac. proteus vulgaris*³⁾ (*Bact. vulgare* *Lehmann* und

1) Zuerst im Kanalwasser, dann in vielen anderen Wässern (*Jordan*, Journ. of hyg. 1903) und auch oft in Fäzes (*MacConkey* ebenda 1905. 333) gefunden, wie der mit ihm wohl verwandte *Bac. levans* mehr oder weniger langsam Gelatine verflüssigend.

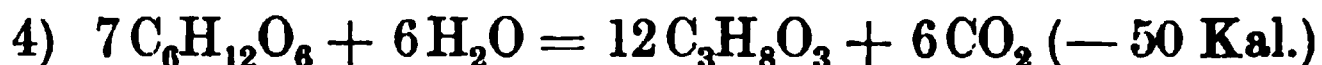
2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9, 1902. Im Sauerteig gefunden, von *Lehmann* und *F. Levy* (Arch. f. Hyg. 49) *Bact. coli albidoliquefaciens* genannt. Auch nicht verflüssigende Bakterien gehören übrigens wohl hierher, so gibt *Leichmann* wenigstens von dem einen *Bac. aërogenes*, den er in Milch fand (Zentr. Bakt. 2. Abt. 5, 1899) und der mehr Kohlensäure wie Wasserstoff bildete, nicht an, daß er verflüssigte. Allem Anschein nach handelt es sich um Bakterien, die einen Übergang von der Aërogenesgruppe zu dem *Bacillus cloacae* bilden. Die Beobachtung *Leichmanns*, daß sein Bazillus (in Milch) neben viel Milchsäure und Gasen keine Essigsäure, sondern Bernsteinsäure bildete, kann für die Zusammensetzung des Gases keine Bedeutung haben, im Gegenteil müßte bei der Bildung von Bernsteinsäure Wasserstoff entstehen oder Kohlensäure verschwinden (s. u. § 107). *Harden* sagt nichts über ein Ersatzverhältnis zwischen Bernsteinsäure und Essigsäure.

3) Nach *Th. Smith*, Kochs Jahresb. 1893, 15.

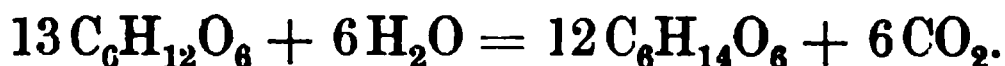
N e u m a n n) und der Baz. des malignen Ödems¹⁾ schließen sich ihrer Gasentwicklung nach an die Kolibazillen an. Die Gasbildung der Buttersäurebakterien (§ 113 ff.) und Zellulosevergärer (§ 117) besprechen wir später.

Der Nachweis, daß die reine Wasserstoffgärung, wie überhaupt die mit Gasbildung verbundenen Gärungen dieser Art, durch Enzyme vermittelt sei, ist bisher noch nicht geführt. K u h t z ²⁾ will sogar daraus, daß die Gasentwicklung ausblieb, wenn er Colibazillen in reine Zuckerlösung oder in andere zuckerhaltige Nährböden unter Verhältnissen, unter denen kein Wachstum stattfinden kann, impfte, auf das Fehlen eines Gärungsenzyms schließen. Jedenfalls ersieht man daraus die Schwierigkeit der Aufgabe.

§ 106. **Glyzerin-, Mannit- und Schleimgärung.** Schon bei der alkoholischen Vergärung des Zuckers durch Hefe haben wir die Bildung von wechselnden, freilich kleinen Mengen (bis 3,6%) von Glyzerin besprochen, dort aber auch über andere Erfahrungen E. Buchners mit Zymase berichtet, die zum Teil erheblich größere Mengen Glyzerin ergaben (S. 263). Sonst ist dergleichen bisher nur selten beobachtet worden, vielleicht nur deswegen, weil man nicht darauf geachtet hat ³⁾. Nur der merkwürdige Bac. manniticus, der aus Fruchtzucker Mannit bildet, erzeugt, wie wir aus der Tabelle auf S. 291 ersehen, aus den übrigen Zuckerarten, insbesondere der Glykose, Galaktose und Saccharose nicht unbeträchtliche Mengen — bis zu 10% des vergorenen Zuckers — von Glyzerin. Wenn man sich den Prozeß nach der Gleichung D u c l a u x ⁴⁾



verlaufen denkt und damit die Formel für die Entstehung des Mannits (§ 124) vergleicht, so erkennt man die Ähnlichkeit zwischen beiden Vorgängen.



Das macht den Eindruck, als ob das Glyzerin den Mannit vertreten könnte.

1) G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h , Arch. f. Hyg. 48.

2) Ebenda 58. 1906.

3) K a y s e r (K o c h s Jahresber. 1904. 321) findet allerdings in seiner zweiten Arbeit über echte Milchsäurebakterien Glyzerin höchstens spurweise.

4) § 98. Diese Gleichung läßt sich auflösen in die folgenden:

a) $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O = 6CO_2 + 12H_2$ (— 147 Kal.), d. h. die Wasserstoffgleichung, und b) $6(C_6H_{12}O_6 + 2H_2) = 6(2C_3H_8O_3)$ (+ 97 Kal.), d. h. eine einfache Reduktion durch Wasserstoff. Ähnliches gilt für die Mannitgärung.

Außer dem *Bac. manniticus* erzeugen noch andere Milchsäurebakterien Mannit, aber anscheinend nur Spuren von Glyzerin, so nach *Beijerinck* und *Kayser*¹⁾ Streptokokken (*Laktokokkus*), und nach *Beijerinck*²⁾ namentlich die langen Milchsäurebazillen (*Laktobazillus*), zu denen übrigens auch der *Bac. manniticus* zu gehören scheint (§ 124).

Wir kommen auf die Mannit- und Glyzeringärung, ebenso wie auf die damit manchmal verbundene Schleimgärung (§ 125) später zurück. Auf die Möglichkeit, daß das gefundene Glyzerin gar nicht dem Zucker, sondern den Fetten (einer Lipasewirkung, vgl. § 137 ff.) entstammt, muß natürlich immer geachtet werden. Die Entscheidung ist freilich, wie wir schon bei der Zymasegärung sahen (S. 263), nicht immer leicht. Die dort mitgeteilten Erfahrungen rücken aber die Möglichkeit nahe, daß es Enzyme gibt, die den Zucker in Glyzerin verwandeln.

§ 107. **Bernsteinsäuregärung.** Spuren von Bernsteinsäure — bis zu 0,7% des vergorenen Zuckers — haben wir bei der alkoholischen Gärung durch Hefe — nicht durch Zymase — entstehen sehen (§ 90). Von den echten Milchsäurebakterien, d. h. Streptokokken und langen Bazillen scheint nur selten Bernsteinsäure gebildet zu werden. *Gayon* und *Dubourg* fanden sie freilich in meßbaren Mengen bei ihrem *Bac. manniticus* (S. 291), *Kayser*³⁾ neuerdings bei seinem Kokkus Nr. 1 in gewissen Fällen. In freiwillig geronnener Milch ist sie nach *Kozai*⁴⁾ meist nur in ganz geringer Menge vorhanden; in zwei Proben fand sie sich allerdings in großer Menge; es handelte sich hier aber um sehr alte und starke Zersetzungen, von denen auch die Eiweißstoffe in Mitleidenschaft gezogen waren. Daß auch aus letzteren Bernsteinsäure (bis zu 2%) entstehen kann, ist von *Blumenthal*⁵⁾ gezeigt worden und auch wahrscheinlich gemacht durch die Beobachtung *Bienstocks*⁶⁾, daß der *Bac. proteus vulgaris* und *prodigosus*, die nach sonstigen Erfahrungen Milchzucker nicht vergären, in Milchkulturen Bernsteinsäure, nicht Milchsäure bilden. Vielleicht erklärt sich so auch der zunächst auffällige Befund *Blumenthals*⁷⁾ in freiwillig geronnener Milch: von zwölf Proben enthielten

1) S. o. Anm. 3.

2) Zeitschr. f. Spiritusind. 1901 (*Kochs* Jahresber.).

3) *Kochs* Jahresber. 1904. 321.

4) Zeitschr. f. Hyg. 38. 394.

5) *Virchows Arch.* 137.

6) *Arch. f. Hyg.* 39. 410, vgl. auch *Nawiasky* § 169.

7) *Virchows Arch.* 146. Vgl. auch *E. und H. Salkowski*, Ber. chem. Ges. 12. 649 und *Brieger*, Zeitschr. physiol. Chem. 5. 360.

nämlich sechs reine Bernsteinsäure, vier ein Gemisch von Bernstein- und Milchsäure und nur eine reine Milchsäure. Statt eiweißzersetzender Bakterien aus der Labsäurebildnergruppe¹⁾ könnten freilich auch die Bakterien aus der Aërogenesgruppe in den Verdacht kommen, durch ein ausnahmsweise reichliches freiwilliges Auftreten in der Milch die Bernsteinsäuregärung verursacht zu haben. In der Tat haben wir schon S. 302 gesehen, daß außer Blumenthal auch Grimbert, Seelig, Bienstock und Emmerling in Milch- oder Milchezuckerkulturen des *Bac. pneumoniae*, *aërogenes*, *coli*, anstatt der Milchsäuregärung eine Bernsteinsäuregärung, und Oppenheimer, Leichmann und Kozai wenigstens hin und wieder beide Gärungen nebeneinander beobachtet haben. Nach Grimberts vergleichenden Studien (S. 292) vertritt dabei im Milchzucker, in der Xylose, dem Dulzit und Dextrin die Bernsteinsäuregärung die in der Glykose, Galaktose, Arabinose, dem Mannit und Glyzerin erfolgende Milchsäuregärung und findet sich mit ihr vergesellschaftet in Rohrzucker und Malzzucker. Nicht ausgeschlossen ist übrigens nach den Beobachtungen Hardens am *B. coli*, daß die Wasserstoffgärung dieser oder jener Kohlehydrate (S. 323, Anm. 1) die Entstehung von Bernsteinsäure — durch Reduktionswirkung — aus Asparaginsäure und vielleicht auch aus Eiweiß, das diese Aminosäure als Kern enthält, begünstigt.

Von einer reinen Bernsteinsäuregärung ist nirgends die Rede, weil nebenher immer noch Essigsäure und Alkohol entstehen. In anderen Fällen fehlt sogar die Bernsteinsäuregärung in der Milch auch bei den Mitgliedern der Aërogenesgruppe vollständig oder tritt nur spurenweise auf (Kozai u. a.). Leichmann fand dabei eigentümliche Beziehungen, indem der eine von ihm aus Milch gezüchtete Stamm neben viel Linksmilchsäure flüchtige Säure (Essigsäure), mehr Wasserstoff als Kohlensäure, der andere keine flüchtige Säure, aber Bernsteinsäure und mehr Kohlensäure als Wasserstoff bildete. Nähme man an, daß hier die Essigsäure einen einfachen Ersatz der Bernsteinsäure bildete, so müßte man gerade ein umgekehrtes Mengenverhältnis der Gase verlangen, denn die Bernsteinsäure verbraucht Kohlensäure zu ihrer Bildung, während die Essigsäure sich vermutlich ohne Mitbeteiligung von Gasen bildet.

1) Vgl. auch die Buttersäuregärung (§ 113ff.). Blumenthal gibt auch für Choleraabazillen und Typhusbazillen Bernsteinsäure an. Bei den letzteren kann dieser Stoff schon deswegen nicht, wie Blumenthal meint, aus dem Milchzucker entstehen, weil der Typhusbazillus den Milchzucker nicht angreift. Beim Choleraabazillus ist sonst Milchsäure nachgewiesen worden (S. 307).

In der Tat führt, wie wir schon bei der Alkoholgärung der Hefe sahen, folgende Formel (D u c l a u x) zur Bernsteinsäure (S. 293):



Man könnte sie auch unter Vereinigung mit der Gleichung für die Wasserstoffgärung: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{H}_2\text{O} = 6 \text{CO}_2 + 12 \text{H}_2 (- 147 \text{ Kal.})$ und Teilung durch 4 folgendermaßen schreiben¹⁾:



Es fragt sich allerdings, ob wir genügende Anhaltspunkte für das Vorkommen der einen oder anderen Reaktion haben. Bisher ist davon leider kaum die Rede, weil nur in wenigen Fällen von bakterieller Gärung die Menge der Bernsteinsäure zusammen mit derjenigen der Gase bestimmt worden ist und die wenigen Beobachtungen noch dazu solche Gärungen betreffen, in denen die Bernsteinsäure gegenüber anderen unter Gasentwicklung gebildeten Erzeugnissen eine allzu geringe Rolle spielt²⁾. Immerhin spricht der Umstand, daß es durch Bakterien (*Bac. manniticus*) und durch Hefe (§ 90) verursachte Gärungen gibt, die Bernsteinsäure, aber keinen Wasserstoff erzeugen, dafür, daß die Formel 5a) nicht oder wenigstens nicht für alle Fälle zutrifft. Ebensowenig haben wir vorläufig Grund, einer dritten, von P o t t e v i n geäußerte Vermutung zuzustimmen, nach der die Bernsteinsäure durch „intramolekulare“ Oxydation aus der Essigsäure hervorginge:



Denn wir kennen nicht wenige Fälle, wo Essigsäure und Bernsteinsäure sich geradezu ausschließen. Dasselbe würde gelten, wenn wir die Bernsteinsäure auf ähnlichem Wege aus der Milchsäure herleiteten. Vor allem müßten wir dabei aber fragen, woher denn der Sauerstoff entnommen würde. Nehmen wir wieder dessen Hilfe zum Wasser, so kommen wir auf unsere obige Gleichung 5a zurück.

§ 108. **Ameisensäuregärung**³⁾. Ameisensäuregärung ist bei zahlreichen Gärungen gefunden worden, so von P o t t e v i n als einziges Nebenerzeugnis der echten Milchsäuregärung (s. o. S. 312), von

1) Die Gleichung 5b) $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4 + \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 + \text{H}_2$, die auch möglich wäre, läßt sich wieder auflösen in die Bernsteinsäure-, Wasserstoff- und die Essigsäuregleichung (S. 293) und ähnliches gälte für Formeln, durch die man die Bernsteinsäure mit Milchsäure, Alkohol oder Ameisensäure zugleich sich bilden ließen.

2) Vgl. G a y o n und D u b o u r g, *Bac. manniticus* S. 291.

3) Die Bildung von Ameisensäure aus Eiweiß bzw. Aminosäuren (vgl. § 168 ff.) pflegt spärlich zu sein.

K a y s e r ¹⁾ neben einem Überschuß von Milchsäure, Alkohol, Essigsäure und manchmal mit Propionsäure zugleich (§ 109) bei der Vergärung der Fruktose, Saccharose, Arabinose und des Mannits durch einen Streptokokkus, nach W a l k e r und R y f f e l ²⁾ sogar in großer Menge neben anderen flüchtigen Säuren bei ihrem Bazillus (Streptokokkus?) des Gelenkrheumatismus. Während hier von Gasen höchstens Kohlensäure nebenher entsteht, wird Ameisensäure, freilich meist nur in Spuren, von den Wasserstoff und Kohlensäure bildenden Bac. aërogenes, coli, ethaceticus, ethacetosuccinicus usw. gebildet (B a g i n s k y, F r a n k l a n d, T a t e, H a r d e n u. a. (vgl. § 105). Die Buttersäurebakterien und Säurelabbildner (B. cloacae) entwickeln gleichfalls kleine Mengen von Ameisensäure. Große Mengen werden aber nach H a r d e n von den nicht gasbildenden Typhus-, nach S e r a auch von Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen entwickelt (S. 308).

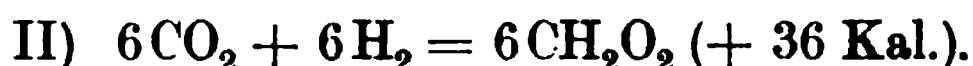
Ihre Herkunft ist noch keineswegs aufgeklärt. Manchmal entsteht sie wohl neben anderen flüchtigen Säuren aus Eiweißstoffen, daß sie aber in den oben angeführten Fällen aus Kohlehydraten hervorgeht, ist nicht zu bezweifeln. Man könnte sie erstens aus dem Zucker ableiten nach der freilich unter Wärmebindung verlaufenden Gleichung:



Auch die Formel der Wasserstoffgärung (§ 98 u. 105)



führt übrigens zu derselben Gleichung, wenn man darin einsetzt:



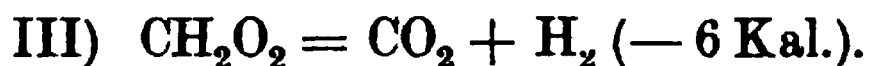
Wenn die Reaktion so verlief, würde es verständlich sein, daß die Ameisensäure bei der Gärung durch die Gasbildner der Aërogenesgruppe in geringerer Menge bei Sauerstoffzutritt unter den Produkten erscheint als bei Luftabschluß (F r a n k l a n d [S. 325], D u c l a u x).

Indessen ist die Möglichkeit einer Umsetzung nach II trotz ihrer exothermen Natur bisher noch nicht nachgewiesen worden, und sie wird auch unwahrscheinlich durch die Tatsache, daß diejenigen Bakterien, die wie die Typhus- und Ruhrbazillen, am meisten Ameisensäure bilden, überhaupt kein Gas entwickeln. Gerade das würde viel leichter verständlich werden, wenn wir annähmen, daß umgekehrt die Aërogenes-, Coli-, Cloacaebazillen usw. auch die Fähigkeit besäßen, größere Mengen von

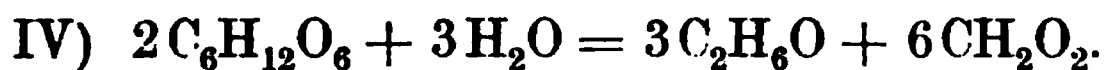
1) K o c h s Jahresber. 1904. 321.

2) Brit. med. Journ. 19. IX. 1903. (B a u m g a r t e n s Jahresber.)

Ameisensäure zu erzeugen, aber gleichzeitig diese zu zersetzen nach der Gleichung:



Nicht nur anorganische Katalysatoren, sondern auch zahlreiche Bakterien einschließlich der Kolibazillen vermögen diese Spaltung zu leisten (§ 140). Für sie entscheiden sich denn auch Frankland und seine Mitarbeiter, und neuerdings wieder H a r d e n, wie wir schon sahen (S. 320), wollen dabei aber nicht von unserer Gleichung I ausgehen, sondern leiten die Ameisensäure aus verwickelteren Formeln ab, in denen außerdem noch Milchsäure, Essigsäure und Alkohol eine Rolle spielen. Wir haben (S. 320) durch Ausmerzungen der beiden Säuren die H a r d e n s c h e Gleichung vereinfacht zu:



Bei Zersetzen der Ameisensäure in Kohlensäure und Wasserstoff nach III würde daraus:



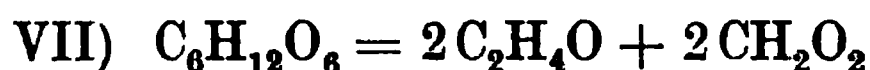
Handelte es sich bloß darum, die Gärungen zu erklären, die durch die Gasbildner hervorgerufen werden, so würde man der Hauptsache nach mit der letzten Gleichung IVa auskommen. Es ist aber leicht zu sehen, daß sie nichts weiter ist als eine Verbindung unserer Gleichungen 1 für die „Alkoholgärung“ und 6 für die „Wasserstoffgärung“, denn

$$2 \times \text{IVa} = 3 \times 1 + 1 \times 6.$$

Unter diesen Umständen würden wir vorziehen 1 und 6 statt IVa zu benutzen, weil wir so nicht an ein bestimmtes Verhältnis zwischen den Alkohol- und Gasmengen gebunden wären. In der Tat haben uns die Analysen in § 104 und 105 gelehrt, daß von einem bestimmten Verhältnis keine Rede ist. Aushilfsweise käme noch Gleichung I und III in Betracht.

In Wirklichkeit haben wir es nicht nur mit den Gasbildnern, sondern auch mit den Typhus- und Ruhrbazillen zu tun. Genügt aber für sie die Formel IV? Nach den Analysen von H a r d e n, die bei der Vergärung von Traubenzucker durch Typhusbazillen 17% Ameisensäure neben viel Alkohol ergaben, schien es allerdings so zu sein. Die neuesten Untersuchungen S e r a s unter meinen Augen haben aber bei denselben Bakterien wie bei den Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen entweder gar keine oder nur Spuren von Alkohol nachgewiesen. Von den uns hier allein interessierenden flüchtigen Stoffen wurden nur Essig- und Ameisensäure gefunden, und zwar nach 6—13 tägiger Kultur in 2 prozentiger Traubenzuckerbouillon (mit Kreide) zusammen

36—57 ccm Normalsäure im Liter. Das Mengenverhältnis wechselte dabei nach meiner Berechnung in Äquivalenten von 1 Mol. Ameisensäure : 2 Mol. Essigsäure bis 3 Mol. Ameisensäure : 1 Mol. Essigsäure, ohne daß sich eine bestimmte Regel feststellen ließ. Danach kommt man also mit der Formel IV nicht aus und muß, weil ja für diese nichtgasbildenden Bakterien Formel I ebensowenig zu gebrauchen ist, nach einer anderen Quelle für die Ameisensäure suchen. An die Gleichungen:



ist auch nicht zu denken, weil Buttersäure, Propionsäure und Aldehyd vermißt werden. Es bleibt hier eine Lücke auszufüllen. Die Zersetzungen des Glyzerins und Mannits durch die Ruhrbazillen verlaufen übrigens ähnlich (§ 131).

§ 109. **Propionsäuregärung.** Propionsäure wurde mehrfach als ein Bestandteil der durch die Milchsäuregärung gebildeten flüchtigen Säuren nachgewiesen, so sehr häufig allein oder mit der Ameisensäure (s. o.) in wägbaren Mengen neben der Essigsäure bei einem von K a y s e r ¹⁾ untersuchten Streptokokkus, beim B. coli (mit etwas Buttersäure) von Baginsky (§ 142). Neuerdings haben v o n F r e u d e n r e i c h und O. J e n s e n ²⁾ gefunden, daß einige in ihren übrigen Eigenschaften den echten Milchsäurebakterien nahestehende Bakterien des Schweizerkäses nicht nur aus Milchsäure, sondern auch aus Milchzucker reichliche Mengen Propionsäure in wechselnden Mengen neben Essigsäure und Kohlensäure bilden. Wir können vielleicht dafür die Gleichung annehmen:



wenn wir nicht erst Milchsäure entstehen und diese weiter zerfallen lassen wollen. Wir kommen bei der Propionsäuregärung der Milchsäure (§ 142) hierauf zurück.

Der Möglichkeit, daß Propionsäure neben Ameisensäure entstände, haben wir eben gedacht (Gleichung VI s. o.).

§ 110. **Andere Nebenerzeugnisse der Milchsäuregärung.** Buttersäure fand G o s i o neben Isovaleriansäure, Aldehyd und Azeton bei Spirillen (S. 307). Von aldehydartigen Verbindungen spricht B r e d e m a n n als Nebenerzeugnissen bei der Essigsäuregärung durch Bac. asterosporus (S. 316). Eine förmliche „Azetongärung“ beobachtete

1) K o c h s Jahresber. 1904. 321.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 528, 1906.

Schardinger¹⁾ auf rohen Kartoffeln bei einem sporenbildenden Bazillus neben der Bildung von Alkohol, Säuren und Gasen. Ob die Stärke oder die Pektinstoffe der Kartoffel oder aber Eiweiß bzw. Aminosäuren das Azeton (C_3H_6O) hergeben, bleibt festzustellen. Buttersäure fehlte. Ein anderer azetonartiger Körper, das Azetylmethylkarbinol $C_4H_8O_2$ entsteht nach Grimbert und Firquet (§ 147) bei der Vergärung der Kohlehydrate durch den Bac. tartricus und nach Desmots durch die Wirkung der Heu- und Kartoffelbazillen auf Kohlehydrate, Mannit und Glyzerin (§ 131). Für Aldehyd käme vielleicht die Entstehung neben Ameisensäure durch Gärung in Betracht (S. 334), natürlich aber auch, wie bei allen diesen Stoffen, Oxydation durch die Luft (s. u.). Etwas Sumpfgas wurde von Baginsky (§ 141) beim Aërogenes und von Conrad²⁾ bei dem verwandten Bac. brassicae acidae neben viel Wasserstoff und Kohlensäure nachgewiesen. Es handelt sich hier um vereinzelte Befunde, die noch ihrer Erklärung harren (vgl. Sumpfgasgärung der Zellulose, der Buttersäure, Milchsäure, der Eiweißkörper.) Am nächsten liegt es, das Sumpfgas aus einer Vergärung der Essigsäure abzuleiten, indessen scheint die Fähigkeit, diese Spaltung hervorzurufen, den hier betrachteten Milchsäurebakterien nicht zuzukommen, ebensowenig wie sie ja die Milchsäure zu Buttersäure zu vergären pflegen. Überhaupt werden die Erzeugnisse der Zuckerspaltung bei den hier besprochenen gemischten Milchsäuregärungen nach den bisher darüber vorliegenden Arbeiten, wenn man von der Ameisensäure absieht (§ 108 u. 140), unter anaëroben Bedingungen regelmäßig nicht weiter angegriffen.

Das schließt freilich nicht aus, daß Ausnahmen vorkommen. Wir haben solche erwähnt bei der Propionsäuregärung (§ 108) und werden bei der Buttersäuregärung einer ganz merkwürdigen Veränderlichkeit der Gärkraft begegnen, die sich nicht nur darin zeigt, daß die einzelnen Erzeugnisse der Zuckerspaltung unter anscheinend gleichen Verhältnissen und von demselben Stamme in ganz verschiedenen Mengen gebildet werden, sondern auch darin, daß Kohlehydrate und deren Produkte, (namentlich Milchsäure), die für gewöhnlich der Zerlegung Widerstand entgegensetzen, kräftig zersetzt werden.

Darüber kann ferner gar kein Zweifel sein, daß hier und da die durch anaërobe Gärung gebildeten Stoffe durch den Sauerstoff der Luft weiter verändert werden (S. 313).

1) Wien. klin. Wochenschr. 1904. 8 vgl. S. 222.

2) Arch. f. Hyg. 29.

§ 111. Bedeutung der Milchsäurebakterien für die Gewerbe¹⁾. Die Verbreitung der Milchsäurebakterien in der Natur ist, wenn möglich, eine noch größere als die der Hefen, und die Veränderungen, die sie hervorrufen, sind von mindestens ebenso großer Bedeutung für die Nahrungsmittelgewerbe, als die alkoholische Gärung. Allermeist handelt es sich, wie sich immer mehr herausstellt, dabei um die beiden großen Hauptgruppen der Milchsäurebakterien, den *Streptococcus lacticus* und die „langen Bazillen“. Bei freiwilliger saurer Gärung der Milch spielt der erste allein eine Rolle, bei dem künstlich durch Zusätze von „Fermenten“, Einfüllen in die alten Schläuche oder Impfen mit kleinen Mengen fertiger Erzeugnisse aus Kuh-, Pferde- und Ziegenmilch hergestellten Kefyr der Kaukasier, Kumys der Tartaren, Mazun der Armenier, Yoghurt der Bulgaren, Leben der Ägypter herrschen dagegen die langen Bazillen (*Bac. caucasicus*, *bulgaricus* usw.) vor, wenn auch die Streptokokken nie fehlen. Das hängt wohl damit zusammen, daß die Streptokokken viel gemeiner sind und gerade mit der Milch unter natürlichen Verhältnissen regelmäßig in Berührung kommen, weil sie den Darm aller Säugetiere bewohnen (Kruse und Hölling²⁾), und außerdem in der Streu und dem Futter, z. B. dem Grase (L. Müller, Th. Gruber³⁾) regelmäßig vorkommen. Die langen Bazillen scheinen freilich auch weitverbreitet zu sein, jedoch meist nicht in Abarten, die ein besonders starkes Gärungsvermögen in Milch besitzen (Rodella, Kruse u. a.). Sie müssen deswegen erst einer Auslese unterliegen, ehe sie für die Milchsäuregärung im Haushalt geeignet werden, weshalb dann hier der künstliche Zusatz nötig wird. In pflanzlichen Nahrungsmitteln, die der sauren Gärung verfallen, fehlen die Streptokokken meist auch nicht, und beherrschen sogar, allerdings anscheinend

1) Die hier nicht angeführte Literatur vgl. § 97 ff.

2) Daher der Name Enterokokkus der französischen Forscher. Vgl. auch L. Müller, Zentr. Bakt. 2. Abt. 17, 632, 1907. Wie sich die Angabe von v. Freudenreich erklärt, daß der *Strept. lacticus* im Kote der Kühe fehle (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz 1902, 91), wissen wir nicht. Dagegen wird der ähnliche Befund Th. Grubers (Anm. 3) dadurch verständlich, daß er die Darmflora mit Milch anreicherte. Dabei überwuchern die üppig wachsenden Bakterien der Aërogenes- und Coligruppe die Streptokokken. Die Milch in den Zitzen unserer Haustiere enthält fast immer schon Streptokokken, nicht nur, wie wohl behauptet worden ist, bloß in den Fällen, wenn eine Euterentzündung vorliegt. Die Unterscheidung des Milchstreptokokkus von dem pyogenen ist nicht immer leicht, aber bei Berücksichtigung des mikroskopischen und hämolytischen Verhaltens (s. § 312) zu leisten, während die Gärungsproben in Kohlehydraten usw. im Stich lassen (§ 112 am Ende).

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17, 1907.

in Abarten, welche den Milchzucker schlecht vergären, (B u t j a g i n ¹⁾) oder inaktive statt Rechtsmilchsäure bilden (A d e r h o l d ²⁾), die S a u e r k r a u t - und s a u r e G u r k e n g ä r u n g. Auch die Säuerung der B o h n e n (A d e r h o l d, R. W e i ß ³⁾), der roten Rüben im russischen „Barszcz“ (E p s t e i n ⁴⁾, P a n e k ⁵⁾), der R ü b e n s c h n i t z e l (E. W e i ß ⁶⁾) wird im wesentlichen durch *Strept. lacticus* verursacht. Nach P a n e k zeichnete sich derselbe durch S c h l e i m b i l d u n g aus (*Bact. betae viscosum*). Das ist nichts Neues bei Streptokokken, denn auch der *Streptococcus hollandicus* (H ü p p e und S c h o l l), der die holländische „lange Wei“, das *Bact. lactis longi* (T r o i l i - P e t e r s s o n ⁷⁾), der die schwedische „Zähmilch“, zwei vielbenutzte Nahrungsmittel erzeugt und wahrscheinlich auch identisch ist mit einem Krankheitserreger, dem Kokkus der „schleimigen Milch“ (S c h m i d t - M ü l h e i m ⁸⁾, H ü p p e ⁹⁾) u. a. gehören hierher (vgl. § 128). In anderen Fällen ist allerdings der Erreger der schleimigen Milch wahrscheinlich ein „langer Bazillus“ (L e i c h m a n n ¹⁰⁾). Die letzteren sind jedenfalls die wesentlichsten Ursachen der sauren Gärung in der B r e n n e r e i m a i s c h e (*Bac. acidificans longissimus* L a f a r, *Bac. Delbrückii* L e i c h m a n n), in dem S a u e r t e i g (H o l l i g e r ¹¹⁾), in den sauren Bieren (*Saccharobac. pastorianus* und *Bac. Lindneri* v a n L a e r, B e i j e r i n c k, H e n n e b e r g), sei es, daß ihre Entwicklung dort, wie in dem Berliner W e i ß b i e r (§ 94), dem Brüsseler „Lambic“ (und „Krickenbier“) und wahrscheinlich auch in dem russischen „Kwass“, dem Hirsebier der Neger usw. gewollt wird, sei es, daß sie sich als Krankheitserscheinung einstellt (§ 96a).

Ausnahmsweise geht die Säurebildung von anderen Bakterien als Streptokokken und langen Bazillen aus, so im I n g w e r b i e r

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 540, vgl. auch W e h m e r ebenda 11 u. 14 (Sauerkraut). Wir selbst fanden übrigens im Sauerkraut lange Bazillen (s. u.).

2) Ebenda 5. 513, 1899 (Gurken), s. auch den Abschnitt über Einsäuern in L a f a r s Handb. 2. 310.

3) Basel. Dissert. 1899 (bei A d e r h o l d).

4) Arch. f. Hyg. 36, 1898.

5) K o c h s Jahresber. 1905, 428.

6) Ebenda 1898. 169.

7) Zeitschr. f. Hyg. 32, 1899.

8) Landwirtsch. Versuchsstation 28. 1883.

9) Deutsch. med. Woch. 1884. 777.

10) Landwirtsch. Versuchsstation. 43, 1894. Andere Bazillen der schleimigen Milch gehören zu den Heubazillen (§ 128). Weitere Krankheitserreger der Milch s. bei den Pigmentbakterien (§ 255).

11) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 305, 1902.

der Engländer von dem durch eigentümliche, oft einseitige Hüllen ausgezeichneten *Ward* ¹⁾ *Bact. vermiforme*. Wenigstens lassen sich diese nicht ohne weiteres in eine der beiden Gruppen der Milchsäurebakterien einordnen ²⁾. Bei der Mehleteiggärung, die unter starker Gasbildung verläuft, spielen nach *Wolffin*, *K. B. Lehmann*, *Fr. Fränkel*, *Papasotiriu*, *Holliger* und *F. Levy* ³⁾ das *Bact. coli* und *levans (cloacae)* die Hauptrolle. In einigen Fällen scheint die Gärung überhaupt nicht auf die Tätigkeit von Bakterien zurückzugehen, sondern auf die von Enzymen, die in den Pflanzen selbst schon vorhanden sind.

Sehr häufig sind die Milchsäurebakterien nicht die einzigen Gärungserreger in dem Nahrungsmittel, das sie verändern. So sind in dem Kumys, Kefyr, Mazun und Leben, ferner im Sauerkraut (*Wehmer*) und Sauerteig, in der Brennereimaische und den oben genannten sauren Bieren regelmäßig Hefen tätig, die alkoholische Gärung erzeugen. Sproß- und Spaltpilze leben dabei offenbar mehr oder weniger in Abhängigkeit voneinander (§ 50), meist in dem Sinne, daß die Hefen durch die Milchsäurebakterien nicht nur vor anderen Schädlichkeiten (z. B. Buttersäurebakterien in der Brennereimaische) geschützt, sondern unmittelbar in ihrem Wachstum und Gärvermögen gefördert werden ⁴⁾; manchmal, wie z. B. im Ingwerbier, ist die Symbiose aber eine gegenseitige, indem auch die Bakterienwirkung durch die Hefe begünstigt wird. Die innige Gemeinschaft zwischen beiden Arten von Mikroben zeigt sich darin, daß sie miteinander öfter zu mehr oder weniger festen Klumpen, sog. Zooglöen, den „Kefyrkörnern“ ⁵⁾ und der „Ginger-beer-plant“ (*Ward*) verbunden sind. Durch Verbindung der Reinkulturen der sie zusammensetzenden Mikroorganismen gelang es wiederholt, die charakteristische Gärung (von *Freudenreich*, *Ward*), nur zum Teil aber auch die Körnerbildung hervorzurufen (*Ward*).

Man hat wie bei der alkoholischen Gärung (§ 94—96) durch Hefe versucht, den Verlauf der Milchsäuregärung dadurch zu sichern, daß

1) *Philosoph. Transactions* 183. B. S. 123, 1892.

2) Eine gewisse Ähnlichkeit zwischen dem *Bact. vermiforme* und dem *Lactobac. caucasicus Beijerinck*s (*Zeitschr. f. Spiritusind.* 1902, 533) ist freilich nicht zu verkennen.

3) *Arch. f. Hyg.* 49, 1904. Lit. Über die Art der Gase vgl. § 105.

4) Zum Teil scheint (in Kefyr und Leben) durch Hydrolyse des Milchsuckers die Gärung erst ermöglicht zu werden (§ 82), zum Teil bildet die Milchsäure einen Reiz für die Hefe (§ 55). Auf die Bedeutung der Milchsäurebakterien für die Käse-*r*eifung kommen wir später zurück (§ 178).

5) Die Angaben über die Zusammensetzung wechseln erheblich. Vgl. *Kern*, *Krannhals*, *Beijerinck* (*Zentr. Bakt.* 6. 44, 1889 und *Zeitschr. f. Spiritusind.* 1902. 533), *Scholl*, *Adametz*, v. *Freudenreich* (*Landwirtsch. Jahrb. Schweiz.* 1896).

man das Gärmaterial mit Reinkulturen beimpfte. So benutzt man seit **Storch und Weigmann**¹⁾ Reinkulturen des *Strept. lacticus* in Magermilch als „Säurewecker“ bei der Butterherstellung, indem man den rohen, oder besser bei 60—95° pasteurisierten Rahm damit versetzt. Ein schönes Aroma erzielt man entweder durch die Auswahl bestimmter Rassen des *Strept. lacticus*²⁾ oder die Zugabe von besonderen Aromabildnern z. B. aus den Gruppen der *B. coli* und *aërogenes*. Nach **Weigmann**³⁾ ist dazu geeignet ein *Bazillus K*, ein „Aromabazillus“, manche Abarten des *Oidum lactis*, nach **Conn** ein *Bazillus* Nr. 41, nach **Maassen** das *Bact. fragariae* und *fragi*, der *Bac. praepollens* (vgl. § 173), nach **Grimm** ein *Bac. aromaticus lactis*, nach **Severin** der *Bac. aromaticus butyri*.

Große Verbreitung haben seit **Lafars**⁴⁾ Empfehlung Reinkulturen von langen Milchsäurebazillen bei der Herstellung des sogenannten Hefegutes, mit dem die Brenneremaische beimpft wird (s. o. S. 282) gefunden. Es gelingt dadurch am besten, die Überwucherung von fremden Bakterien, vor allem der Buttersäurebakterien, zu verhindern und nebenbei wirkt die Milchsäure anscheinend als Reizmittel für die Hefe.

§ 112. Verwertung der Säure- und Gasbildung zur Unterscheidung der Bakterien. In der bakteriologischen Diagnostik kann man sich nicht darauf einlassen, jeden Fund eines bestimmten Bakteriums dadurch sicherzustellen, daß man ausführliche chemische Untersuchungen nach Art der in den § 98—109 beschriebenen⁵⁾ anstellt, sondern man bedarf einfacherer Verfahren. Wir stellen sie hier, soweit sie sich auf Säure- und Gasbildung beziehen, kurz zusammen, indem wir auch die höheren Alkohole und Glykoside berücksichtigen.

Seit **Buchner**⁶⁾ wurde ein Zusatz von Lackmus zum zuckerhaltigen Nährboden vielfach zum Nachweis einer Säurebildung von Bakterien benutzt. **Petrushky**⁷⁾ empfahl dann die seitdem vielfach⁸⁾ angewandte Lackmusmolke zum vergleichenden Studium. Reichliche Säure bildeten der Fäzesbazillus **Briegers**, der

1) Milchzeitung 1890. 593 und 944.

2) Vgl. **Weigmann**, ebenda 1896. 793.

3) Vgl. Lit. bei **Weigmann** in **Lafars** Handb. 2. 299.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 194, 1896; 7. 871, 1900.

5) Wie man gesehen hat, lassen übrigens gerade die Untersuchungen der für die medizinische Diagnostik wichtigsten pathogenen Bakterien in dieser Hinsicht noch viel zu wünschen übrig.

6) Arch. f. Hyg. 3. 418.

7) Zentr. Bakt. 1889; 7, 1890; 19, 1896.

8) Z. B. von **Germano** und **Maurea** für die typhusähnlichen Bakterien. **Zieglers** Beitr. 12, 1893.

Bac. acidi lactici (aërogenes) H ü p p e s und Kapselbazillen, weniger der Typhus- und Milzbrandbazillus und Micr. tetragenus, gar keine Veränderung bewirkten Hühnercholera und Mäusesepsikämie, alkalische Reaktion erzeugten Schweinerotlauf, Schweineseuche, Streptokokken (?) und Staphylokokken, Pyocyaneus, Proteus, Cholerabazillen usw., ferner der Bac. (faecalis) alcaligenes. Die Angreifbarkeit des Milchzuckers entscheidet hier, wie in der ziemlich gleichwertigen, aber leichter herzustellenden Lackmusalch 1), wenn auch nicht allein über die Säurebildung. Denn auch das Eiweiß kann in Säure gespalten werden, wie es z. B. bei anderen Stämmen des Proteus vulgaris meist geschieht 2). Hier, wie auch bei schwächeren Graden von Säuerung, die sich z. B. beim Typhus- und Ruhrbazillus finden, kann man über den Ursprung der Säure im Zweifel sein, wenn man es unterläßt, auf Säurebildung in anderen Milchzuckernährlösungen (s. u.) zu prüfen. Für die Alkalibildung in Milch oder Molke ist dagegen wohl ausschließlich der Zerfall des Milcheiweißes in Ammoniak und ähnliche Stoffe verantwortlich zu machen (vgl. § 170, 171, 174). Man darf sich natürlich nicht wundern, wenn v. S o m m a r u g a 3) in den gewöhnlichen Fleischsaftnährböden durch Titrierung mit Rosolsäure fast ausschließlich Alkalibildung feststellte, weil sie eben zuckerfrei oder -arm zu sein pflegen. Als er später 4) Glyzerinnährböden benutzte, erhielt er ebenso häufig Säure, weil Glyzerin der sauren Gärung zu verfallen pflegt (§ 131). Unter den geprüften Mikroben machten nur der Pyocyaneus, eine weiße Hefe und ein Trommelschlägerbazillus Ausnahmen. Später wurden die einzelnen Zuckerarten systematisch auf Säureentwicklung geprüft. Dabei zeigte sich, daß Traubenzucker noch regelmäßiger zersetzt wird wie Glyzerin (Th. S m i t h 5)), K. B. L e h m a n n und N e u m a n n 6)), K r u s e 7)). Vielleicht gibt es kein bei Sauerstoffabschluß gedeihendes Bakterium, das diesen Stoff unberührt läßt. Hier, wie auch bei den strengen Aërobiern kann freilich die Säure- durch die Alkalibildung verdeckt werden, wird aber dann häufig noch deutlich, wenn man auf Oberflächen 8) z. B. mit Lackmus

1) Vgl. z. B. K r u s e, R i t t e r s h a u s, K e m p und M e t z (Zeitschr. f. Hyg. 57) für Dysenterie und Pseudodysenterie.

2) B i e n s t o c k, Arch. f. Hyg. 39, W e b e r, Zentr. Bakt. 33 u. § 169.

3) Zeitschr. f. Hyg. 12, 1892.

4) Ebenda 15, 1893.

5) Zentr. Bakt. 18, 1895.

6) Grundriß, 4. Aufl. S. 86.

7) Nicht veröffentlichte Untersuchungen.

8) Bei manchen fakultativen Anaëroben kann freilich umgekehrt die Säurebildung durch anaërobe Züchtung bewirkt werden. Vgl. u. (S. 349) bei den Pneumokokken (S a l o m o n).

versetzten Platten oder Schrägagar züchtet und nicht zu wenig Zucker, d. h. mindestens 1—2% nimmt. Diese letztere Vorschrift gilt überhaupt für jede Prüfung mit den verschiedensten Zuckerarten. Bei 0,1—0,4% Zuckergehalt kann nach unseren Erfahrungen bei Dysenterie und Pseudodysenterie¹⁾ ein Fehlen der Säuerung dadurch vorgetäuscht werden, daß die Alkalibildung überwiegt. Untersucht man allerdings früh genug, so erhält man auch hier fast stets²⁾ saure Reaktion, erst später alkalische. Von dem ungleichen Eiweißzersetzungs- bzw. Ammoniakbildungsvermögen (oder von der Fähigkeit Säure zu verzehren? vgl. § 149) hängt es ab, ob die saure Reaktion bis zu Ende fortbesteht oder nicht. So können wir die einzelnen Stämme der Pseudodysenterie danach kennzeichnen, ob die Kulturen bei 0,2, 0,4 oder erst bei 1% Zuckerzusatz dauernd sauer bleiben. So erklärt sich jedenfalls auch das von Proskauer und Capaldi³⁾ angegebene unterschiedliche Verhalten des *B. coli* und *typhi* in 0,1—0,2% Traubenzucker- und Mannitlösungen. Ebenfalls werden dadurch verständlich die Beobachtungen, die man über die Säurebildung des *Diphtheriebazillus* gemacht hat⁴⁾. Wenn Traubenzucker (aus dem Glykogen des Fleisches) in der Bouillon schon vorhanden ist oder ihr künstlich zugesetzt wird, wird Säure gebildet; sobald die Zuckermenge aber klein ist, nur vorübergehend. Der von vornherein vorhandene Alkaleszenzgrad spielt dabei insofern eine Rolle, als er, wenn gering, die Säuerung begünstigt. Eine gewisse Wandelbarkeit der Bazillen ist zwar unbestritten; ob daneben beständige Stammesverschiedenheiten vorkommen, aber noch fraglich. Die Pseudodiphtheriebazillen bilden, wie Peters⁵⁾ in meinem Laboratorium feststellte, meist, aber nicht immer, weit weniger Säure als die Diphtheriebazillen. Nach den neuen Versuchen Lubenaus⁶⁾ gilt das Übergewicht der Diphtheriebazillen in bezug auf das Gärungsvermögen auch nur für Trauben-, Frucht-, Malzzucker und Dextrin, nicht für Milch- und Rohrzucker, und nach Goodman ist es so der Variabilität unterworfen, daß es völlig verschwinden kann (§ 353). Auch für die Unterscheidung der Menschen- und Säugetier-

1) Zeitschr. f. Hyg. 57. 422.

2) Einige strenge Aërobier, wie der *Bac. alcaligenes*, gewisse Sporenbildner und Kokken (s. u.) gehören zu den Ausnahmen.

3) Zeitschr. f. Hyg. 23, vgl. Sion und Negel, Zentr. Bakt. 32. 593.

4) Vgl. Spronck, Annal. Pasteur 95, Madsen, Zeitschr. f. Hyg. 26, 1897 u. Zentr. Bakt. 25, 1899; van Turenhout, ref. Zentr. Bakt. 18. 295; Cobbett, Annal. Pasteur 1897; Hellström, Zentr. Bakt. 25, 1899; Hilbert, Zeitschr. f. Hyg. 29, 1898.

5) Sitzungsber. niederrhein. Ges. Nat. u. Heilk. 1896.

6) Arch. f. Hyg. 66, 1908.

tuberkelbazillen läßt sich nach Th. Smith¹⁾ die Säurebildung benutzen. Nur die ersteren vermögen (aus Glyzerin) Säure zu entwickeln.

Umfangreiche vergleichende Untersuchungen über die Säurebildung von 31 Kulturen stellte Segin²⁾ unter Leitung Dieudonné's in Lösungen an, die außer 1% Zucker und Lackmustinktur noch Nutrose³⁾ (Milchkasein) enthielten und dadurch gleichzeitig der Farbenänderung und der Gerinnung zugänglich waren. Der Traubenzucker wurde von allen zersetzt mit Ausnahme des Bac. faecalis alcaligenes, Micr. tetragenus Lode und Staphylococcus citreus, die vielleicht bei anderen Versuchsanordnungen auch positiv reagiert hätten. Fruktose und Galaktose verfallen zwar auch regelmäßig in saure Gärung, aber namentlich bei letzterer führt die Säuerung nicht so leicht zur Gerinnung⁴⁾. Maltose erwies sich erheblich widerstandsfähiger, z. B. gegenüber manchen Paratyphusbazillen und dem Bac. dysenteriae (s. u.). Rohrzucker wurde leider nicht geprüft, Milchzucker blieb noch öfter unberührt, z. B. durch den Typhusbazillus und die meisten Paratyphusbazillen, während allerdings einige andere, die den Malzzucker nicht vergoren, hier Säure bildeten (s. u.). Auch die Dysenteriebazillen bildeten kleine Mengen davon (s. u.). Raffinose, Erythrit, Dulzit, Querzit, Glykoheptose wurden nur ausnahmsweise angegriffen, die Pentosen Arabinose und Xylose dagegen wieder häufiger, z. B. durch den Coli- und Typhusbazillus (vgl. Harden S. 303).

Eine Anzahl von Bakteriengruppen wurde besonders gründlich auf ihr Verhalten zu den Zuckerarten geprüft. Dabei wurde zumeist aber nicht die Säure, sondern nur die Gasbildung berücksichtigt. Wir haben gesehen (§ 105), daß von Bakterien⁵⁾ Gas ohne Säure überhaupt nicht gebildet wird, dagegen umgekehrt Säure ohne Gas ziemlich häufig. Die Untersuchungen über die Coli-Typhusgruppe (im engeren

1) Journ. medic. research. 13, 1905.

2) Zentr. Bakt. 34, 1903; 2. Abt. 12, 1904.

3) Vgl. auch den Milchzucker-Nutrosenährboden von Barsiekow (Wien. klin. Woch. 1902. 44) und Klopstock (Berl. klin. Woch. 1902. 34). Statt der Nutrose kann man nach Segin mit ähnlichem Erfolg auch einen Zusatz von Rinderserum (10%) benutzen. Kahlbaum'sche Lackmuslösung empfiehlt sich mehr wie Merck'sche, weil sie weniger leicht reduziert wird.

4) Segin möchte das mehr durch Ungleichheit der Säurebeschaffenheit als der Säuremenge erklären.

5) Auch die Hefen machen keine Ausnahme, wenn auch die Säurebildung gering ist (§ 90) und die saure Reaktion hier im wesentlichen von der Kohlensäure abhängt.

Sinne) sind so zahlreich, daß wir sie hier nicht alle anführen können. Es hat sich stets herausgestellt, daß die wichtigsten pathogenen Vertreter dieser Gruppe¹⁾, die Typhus- ebenso wie die Dysenterie und Pseudodysenteriebazillen, die vielleicht wegen ihrer Unbeweglichkeit besser zu der Aërogenesgruppe (s. u.) zu stellen wären, aus sämtlichen Zuckerarten kein Gas, dagegen aus Traubenzucker und Glycerin viel Säure bilden, wahrscheinlich aber auch andere Hexosen und Pentosen mehr oder weniger säuern, während die übrigen Zuckerarten sich ihnen gegenüber ungleich verhalten. Der Typhusbazillus säuert, wie wir aus den Arbeiten von Capaldi und Proskauer (s. o.), Lentz²⁾, Conradi, von Drigalski und Jürgens³⁾, Segin (s. o.) ersehen, Malzzucker, aber Milchzucker überhaupt nicht, oder höchstens ganz unbedeutend. Daraus erklärt sich auch das Verhalten zur Milch und zur Lackmusmolke. Rohrzucker wird nach C. O. Jensen und Bahr⁴⁾ nicht angegriffen, ebensowenig Dextrin und Inulin nach Lentz. Von den Zuckeralkoholen wird nur Mannit, nach Capaldi und Proskauer auch Sorbit, und zwar stark, vergoren. Die Dysenteriebazillen vergären nach unseren eigenen umfassenden Untersuchungen (s. o.) sowie nach Lentz, His u. a. zwar auch nicht Milchzucker, Dextrin und Inulin, aber ebensowenig Mannit und gewöhnlich auch nicht Maltose. Allerdings haben sich im letzteren Punkte Ausnahmen gefunden. In Rohrzucker fallen die Proben auch recht verschieden aus. Die Pseudodysenteriebazillen wurden zwar von Lentz als Mannitvergärer erkannt, im übrigen zeigen sie große Verschiedenheiten, wie namentlich aus den Arbeiten von Flexner und Holt, Hiß⁵⁾,

1) Unter den nicht pathogenen wird gewöhnlich der *Bac. faecalis alcaligenes*, als ein jedes Säuerungs- und Gärungsvermögens entbehrender Verwandter des Typhusbazillus angeführt, es ist das zwar richtig und trifft auch für den *Bac. aquatilis sulcatus* Weichselbaums, den *Bac. innocuus* Kruse (aus Milch), die man fast mit dem *Bac. alcaligenes* identifizieren kann, zu, insofern stehen aber alle diese Bakterien eigentlich außer Wettbewerb, als sie strenge Aërobier sind. Die Bazillen der hämorrhagischen Septikämie, die ebenfalls kaum als fakultative Anaërobier zu bezeichnen sind, aber meist mehr oder weniger Säure aus Kohlehydraten bilden, stehen schon in morphologischer Beziehung etwas abseits von der Coli- und Aërogenesgruppe. Dagegen ist der Bazillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere nach meinen Untersuchungen ein nächster Verwandter des Typhusbazillus.

2) Zeitschr. f. Hyg. 41. 560.

3) Zeitschr. f. Hyg. 42. 153.

4) Zentr. Bakt. 39. 267, 1905.

5) Journ. medic. research. Dez. 1904.

S h i g a ¹⁾ und unseren eigenen hervorgeht. Zunächst gibt es Stämme, die sogar Milchzucker in mehr oder weniger erheblichem Grade vergären, von einigen wird auch Rohrzucker und Malzzucker energisch angegriffen. Es ist aber nicht möglich, wie *H i ß* es versucht, abgesehen von der Milchzuckergruppe, die auch sonst deutlich verschieden ist, andere auf Grund der Rohr- und Malzzuckervergärung zu bilden. Dazu ist das Verhalten der Stämme zu u n b e s t ä n d i g (vgl. § 353). Brauchbarer zur Gruppeneinteilung ist das Verhalten gegenüber agglutinierendem Serum.

Die *P a r a t y p h u s*-, *E n t e r i t i d i s*- oder, wie sie zuerst von *Th. S m i t h* genannt wurde, *H o g c h o l e r a g r u p p e* zeichnet sich dadurch aus, daß der Traubenzucker nicht bloß gesäuert, sondern unter Gasbildung vergoren wird²⁾ und der Milchzucker unverändert bleibt³⁾. Im übrigen bestehen erhebliche Verschiedenheiten zwischen den einzelnen Untergruppen und Stämmen⁴⁾. So fanden *S e g i n* (s. o.) und *B a h r* bei einigen ihrer Kulturen, daß sie die Pentosen unberührt ließen. *J e n s e n* und *B a h r* schreiben ferner zwar der Gruppe die Eigenschaft zu, Malz- und Rohrzucker nicht anzugreifen, in ersterer Beziehung lauten aber, wie wir sahen, die Angaben von *S e g i n* verschieden; in letzterem scheint allerdings, nach den in meinem Laboratorium von *T r a u t m a n n* ⁵⁾ gemachten Erfahrungen, die *J e n s e n*sche Regel zu gelten, während *T w o r t* ⁶⁾ die Anpassungsmöglichkeit der Paratyphusbazillen an die Rohrzuckervergärung behauptet. Glyzerin und Mannit wird allgemein vergoren, die übrigen Zuckeralkohole unregelmäßig (*B a h r* ⁷⁾).

Die bisher genannten Bakterien (Typhus, Dysenterie, Pseudodysenterie und Paratyphus), die — zufälligerweise? — gerade die pathogenen Vertreter der Coligruppe sind, zeichnen sich, wie aus dem

1) Zeitschr. f. Hyg. 60. 78.

2) Auch für die anderen angegriffenen Zuckerarten gilt fast stets die Regel, daß sie in Säuren und Gase zerfallen. Einige Ausnahmen s. bei *J e n s e n*.

3) Wir wollen aber dahingestellt sein lassen, ob nicht auch in dieser Beziehung Übergänge zur eigentlichen Coligruppe bestehen.

4) Vollständige Literatur s. bei *K u t s c h e r*, Paratyphus, in *K o l l e - W a s s e r m a n n*, Handb. 1. Erg.-Bd. 2. H., 1907; vgl. auch *M a c - C o n k e y*, Journ. of hyg. 1905. Keine Unterschiede findet *Z u p - n i k*, Zeitschr. f. Hyg. 52. 531.

5) Zeitschr. f. Hyg. 45.

6) Proceedings Roy. Soc. 79. 329.

7) Die Vergärung von Zitronen- und anderen Säuren, die von *J e n s e n* und *B a h r* zur Unterscheidung von Paratyphusbazillen empfohlen wird, eignet sich nach *T r o m m s d o r f f* (Arch. f. Hyg. 55) nicht dazu. Über die Brauchbarkeit der Glykoside vgl. *T w o r t*.

obigen hervorgeht, durch den Mangel an Gärvermögen gegenüber dem Milchzucker aus, während die im folgenden zu besprechenden eigentlichen Coli- (und Aërogenes-)bazillen auch den Zucker zu vergären pflegen. Man hat darauf eine ganze Anzahl von Züchtungsverfahren aufgebaut, indem man Milchzucker dem als Platte dienenden Nährboden zufügte und zum Kenntlichmachen der Säure bzw. keine Säure bildenden Kolonien, Farbstoffe, wie Lackmus (W ü r t z), Lackmus mit Kristallviolett und Nutrose (Conradi und v. Drigalski), Säurefuchsin mit Natriumsulfit (E n d o), Säurefuchsin und Malachitgrün (K i n d b o r g) zusetzte. Bei vorsichtigem Gebrauch erweisen sie sich recht nützlich, man beobachtet aber gerade hier recht häufig, daß die aus dem tierischen Körper entnommenen Bakterien zwar in der ersten Plattengeneration den Milchzucker unzersetzt lassen, sich aber später ändern (s. u. bei den Aërogenesbazillen und § 353).

Die Coligruppe im engsten Sinne umfaßt diejenigen nach ihren sonstigen morphologischen und kulturellen Merkmalen hierhergehörigen Bakterien, die außer Traubenzucker auch Milchzucker unter Gasbildung vergären. Im übrigen finden sich große Unterschiede, wie schon vor längerer Zeit Th. Smith, Rodet und Roux, Gilbert und Lion, P é r é, Germano und Maurea (s. o.) in meinem Laboratorium u. a.¹⁾ gegenüber Rohrzucker und anderm Zucker, später in besonders umfassender Weise, d. h. an vielen Stämmen und gegenüber allen möglichen Zuckern C. O. Jensen²⁾ und Mac Conkey³⁾ feststellten. Ersterer, der außer Glykose und Laktose auch Fruktose, Galaktose und Mannose, Arabinose und Xylose, Maltose und Melibiose, Mannit und Sorbit gleichmäßig durch alle Stämme vergären sah, unterschied zunächst nach ihrem Verhalten zu Rohrzucker (und Raffinose) zwei Untergruppen und teilte diese dann wieder in Unterabteilungen, je nachdem sie Sorbose, Rhamnose, Glycerin, Adonit und Dulzit zersetzten⁴⁾. Mac Conkey, der den

1) Literatur bei Pfaundler in Kolle-Wassermann, Handb. 2. 349.

2) S. bei Bahr a. a. O. und bei Jensen, „Kälberruhr“ in Kolle-Wassermann, Handb. 3. 174. Die Angaben bei Capaldi und Proskauer sind leider wegen des zu geringen Zusatzes von Zucker nicht zu gebrauchen, beziehen sich auch nur auf einen Stamm. Das letztere gilt auch für die genaueren Angaben P é r é s, die S. 309 wiedergegeben wurden.

3) Journ. of hyg. 1905.

4) Als weitere Unterscheidungsmerkmale können gelten die Fähigkeit, Zitronen-, Glukon-, Zucker-, Schleim- und Traubensäure zu vergären, den Stickstoff aus Ammoniaksalzen und Amiden oder manchen Peptonen und Albumosen zu verwerten, Indol zu bilden usw.

Colibazillen außerdem noch das Vermögen, Dextrin, aber nicht Inulin und nur ausnahmsweise Stärke zu zersetzen, zuschrieb, stellte nach dem Verhalten zu Rohrzucker und Dulzit vier Untergruppen auf. Die Vergärung von Glykosiden untersuchten T w o r t (s. o.) und v a n d e r L e c k¹⁾ und fanden dabei ebenfalls große Unterschiede (§ 156).

In nächster Beziehung zu den Kolibazillen und kaum von ihnen scharf zu trennen²⁾ stehen zwei andere „Sammelarten“, die des B a c. a ë r o g e n e s und des B a c. c l o a c a e. Unter dem ersteren Namen faßt man gewöhnlich die unbeweglichen, häufig schleimbildenden Formen, unter den letzteren am besten die verflüssigenden und gasbildenden, natürlich auch gramnegativen und sporenfreien Bazillen mit Ausnahme der Proteusgruppe zusammen. Der Bac. coli aërogenes im engeren Sinne (E s c h e r i c h) vergärt nach M a c C o n k e y dieselben Zucker wie der B. coli communis und außerdem Rohrzucker, nicht Dulzit, der naheverwandte Bac. pneumoniae Friedländer auch den Dulzit, der Bac. acidi lactici H ü p p e weder Rohrzucker noch Dulzit. P e r k i n s³⁾ unterscheidet dagegen den Bac. aërogenes, (einschließlich vieler „Kapselbazillen“), der alle Kohlehydrate vergären soll, von dem Bac. pneumoniae, der nur die Laktose und dem Bac. acidi lactici, der nur den Rohrzucker unberührt läßt. Sicher gibt es Formen mit diesen Eigenschaften, die Namen sind aber willkürlich gewählt. Es fehlt wohl auch nicht an Übergängen, z. B. solchen „Pneumoniebazillen“, die Milchzucker schwach vergären, nach D e n y s und M a r t i n⁴⁾ läßt sich auch das schwache Gärvermögen durch fortgesetzte Kultur in Milch erheblich steigern. Wir selbst haben öfter aus Urin hierhergehörige Bazillen gezüchtet, die ursprünglich sich durch ihr schwaches oder mangelndes Gärvermögen in Milch und selbst in Traubenzucker auszuzeichnen schienen, aber dann bei fortgesetzter Züchtung kräftige Gärungserreger wurden. Auf Grund aller dieser Erfahrungen kann man auf die Unterscheidungsmerkmale der sogenannten Rhinosklerom- und Ozänabazillen von Pneumonie- und Aërogenesbazillen keinen großen Wert legen. Die ersteren sind anscheinend nur Rassen, die durch den Aufenthalt im lebenden Körper ihr Gärvermögen mehr oder weniger eingebüßt haben⁵⁾. Über das Verhalten der Aërogenesgruppe zu Glykosiden vgl. T w o r t und v a n d e r L e c k (s. o.).

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17, 1907.

2) Vgl. meine Darstellung in F l ü g g e s Mikroorgan. 3. Aufl. 2. 336, 1896.

3) Journ. of infect. dis. 1904. 24.

4) Cellul. 9. 261, 1893.

5) K l e m p e r e r und S c h e i e r (Zeitschr. f. klin. Mediz. 45) haben durch Agglutinationsversuche die Identität der Rhinosklerom- und Pneumoniebazillen noch wahrscheinlicher gemacht.

Nach *Mac Conkey* verhält sich der *Bac. cloacae* (*Jordan*) auch in seinen aus Fäzes gewonnenen Stämmen im wesentlichen gegenüber den Zuckerarten wie der *Bac. aërogenes* (s. o.). Jedoch unterscheidet er sich nach *Th. Smith u. a.*, wie wir schon S. 327 sahen, von ihm, wie von der *Coli-* und *Paratyphusgruppe* sowie den *Proteusbazillen* (s. u.) durch die Zusammensetzung seiner Gärungsgase, indem bei jenen die Kohlensäure überwiegt, bei diesen der Wasserstoff. Eine einzelne Prüfung darf freilich nach *Mac Conkey* nicht als entscheidend betrachtet werden, weil gelegentlich Abweichungen vorkommen. Immerhin hat sich auch uns wie *Jordan u. a.* die Absorptionsprobe mit Kalilauge im Gärungsröhrchen als nützlich erwiesen, um die manchmal erst spät verflüssigenden Bakterien der *Cloacae*gruppe sofort als solche zu erkennen.

Der schon durch seinen Fäulnisgestank leicht erkennbare *Bac. proteus* ist ein weiterer Gasbildner in Zuckerarten. Nur Milchzucker bleibt unzersetzt (*Smith, Kruse u. a.*), Rohrzucker und selbst Traubenzucker wird aber nach *R. Weber*¹⁾ mit wechselnder Kraft angegriffen.

Als Gasbildner in Traubenzucker wäre sonst noch zu erwähnen seltenere Rassen des *Bac. prodigiosus*, *fluorescens liquefaciens* und *non liquefaciens*, man könnte sie fast als gefärbte Abarten der *Koli-*, *Aërogenes-*, *Cloacae-* oder *Proteusgruppe* ansehen, wenn sie sich nicht durch die Anordnung ihrer Geißeln meist als „*Pseudomonaden*“ (*Migula* vgl. § 359) erwiesen. Von den sporenbildenden Bazillen scheinen wesentlich nur die strengen Anaërobier zur Vergärung der Kohlehydrate unter Gasbildung²⁾ befähigt zu sein, doch gibt es auch einige fakultative Anaërobier unter ihnen (S. 316). Wir kommen auf die Unterschiede der Anaërobier bei der Buttersäuregärung (§ 113 ff.) zurück, erwähnen aber hier den interessanten Versuch *Achalmes*³⁾, durch Züchtung in Nährlösung mit gekochtem Eiweiß und Zusatz verschiedener Kohlehydrate die einzelnen Arten der Anaërobier zu trennen. Leider entsprechen seine Angaben in vieler Beziehung nicht den Erfahrungen anderer Forscher, wie *Tissier*, *Martelly* und *Gasching*⁴⁾, *Grassberger* und *Schattenfroh*.

Unter den Spirillen gibt es keine Gasbildner, sie sind ja auch meist strenge Aërobier; unter den Kokken wenigstens keine, die gleichzeitig Wasserstoff und Kohlensäure oder etwa so viel von

1) Zentr. Bakt. 33. 1.

2) Säure wird öfter gebildet, zum Teil allerdings offenbar aus den Eiweißstoffen.

3) Annal. Pasteur 1902.

4) Ebenda 1902 und 1903.

letzterer allein wie die Hefe bilden. Dagegen sind namentlich *Streptokokken* als fakultative Anaerobier und Säurebildner bekannt (vgl. § 97). Man hat vielfach versucht, das Verhalten derselben zu den Kohlehydraten zur Unterscheidung der zahlreichen Abarten der Streptokokken zu benutzen. So sollen, um nur Arbeiten der neuesten Zeit zu erwähnen, nach *Gordon*¹⁾ 300 aus Speichel gesunder Personen gezüchtete Streptokokken in Lackmusbouillon mit Saccharose und Laktose Säure bilden, selten mit Raffinose und Salizin oder anderen gärfähigen Stoffen, niemals mit Mannit, 300 aus Fäzes stammende Streptokokken zersetzten außer Saccharose regelmäßig Salizin, häufig Laktose, seltener Raffinose und Mannit. Von 200 aus dem kranken Körper stammenden Streptokokken wurde regelmäßig Saccharose und Laktose gesäuert, nur ausnahmsweise einer der übrigen Stoffe. Die späteren Untersucher *Natvig*, *Baumann*, *Schultze*²⁾, *Nieter*³⁾, *Baumgarten* und letzthin *Salomon*⁴⁾ in einer sehr ausführlichen Arbeit kamen, wenn man von *Schultze* absieht, der mit *E. Fränkel* den Lackmuslaktoseagar zur Unterscheidung empfiehlt, zu weniger günstigen Ergebnissen. Trotzdem glaubt *Salomon* nach ihrem Verhalten auf der Oberfläche von Lackmus-Aszitesagar, dem vergärbare Stoffe zugesetzt werden, unter gleichzeitiger Benutzung der Hämolyse (§ 312), Gestalt und Schleimbildung folgende „natürliche“ Einteilung der Streptokokken aufstellen zu können.

A. Gruppe des *Strept. pyogenes*:

Regelmäßige Hämolyse in Blutplatten. Säurebildung aus Dextrose, Lävulose, Galaktose, Mannose, Maltose, Saccharose, nur ausnahmsweise aus Arabinose. Nach ihrem Verhalten zu Stärke, Milchzucker, Glyzerin, Mannit und Raffinose kann man folgende Unterabteilungen unterscheiden:

- I. *Strept. pyogenes* (5 Stämme von Eitererregern). Säure wird aus löslicher Stärke und Milchzucker gebildet, nicht aus Glyzerin, Mannit und Raffinose;
- II. aus Blut gezüchtete Stämme (7) bilden Säure aus Mannit und Glyzerin, zum Teil aus Raffinose, weniger oder gar nicht aus Stärke und meist auch nicht aus Milchzucker;
- III. aus diphtherieverdächtigen Fällen gezüchtet (9), säuern Stärke und Raffinose regelmäßig, meist auch Milchzucker; Mannit und Glyzerin, wenn überhaupt, nur in geringem Grade, Arabinose ausnahmsweise;
- IV. vereinigt vorläufig 17 aus diphtherieverdächtigen Fällen gezüchtete Stämme. Die ersten 11 von ihnen würden, wenn sie

1) *Lancet* 1905 I.

2) *Münchn. med. Woch.* 1907. 24.

3) *Zeitschr. f. Hyg.* 56, 1907.

4) *Zentr. Bakt.* 47. 1, 1908 mit Lit.

Hämolyse verursachen — die Prüfung darauf wurde unterlassen — in die Gruppe I gehören, die letzten 6 würden eine Gruppe für sich bilden, da sie zwar Stärke und Mannit säuern, nicht aber Raffinose und Glyzerin.

B. Gruppe des *Strept. mucosus*, kennzeichnet sich durch schleimiges Wachstum und grünen Farbstoff in Blutplatten:

I. (4 Stämme) bilden Säure aus den meisten Hexosen und Disacchariden, ferner aus Glyzerin, Arabinose und Mannit, nicht aus Raffinose und löslicher Stärke.

II. (6 Stämme) greifen nach 24 Stunden nicht, nach 48 selten eins der Kohlehydrate usw. — am ehesten noch Glykose — an.

C. Gruppe der Pneumokokken (3 Stämme), morphologisch und kulturell, sowie durch grünen Farbstoff in Blutplatten und fehlende Säurebildung charakterisiert.

D. „Saprophytische“ Streptokokken (6 Stämme aus dem Menschenkörper), hämolysieren nicht, säuern Hexosen und Disaccharide, ferner meist Stärke, selten Raffinose oder Mannit, nicht Glyzerin.

Gerade die echten saprophytischen Streptokokken aus Milch, Fäzes usw. wurden leider nicht geprüft. Wie wenig natürlich die Einteilung ist, zeigt sich schon aus den mannigfachen Ausnahmen und Übergängen, die Salomon zum Teil in eine Gruppe E vereinigt.

Eine zweite Versuchsreihe Salomons in Bouillon mit den entsprechenden Zusätzen — d. h. bei verhältnismäßigen Sauerstoffabschluß — ergab ferner ein ganz anderes Bild. Hier bildeten auch die Pneumokokken¹⁾ namentlich aus Glykose, aber auch aus löslicher Stärke und Raffinose Säure, und Glyzerin und Mannit wurden auch vom *Streptococcus pyogenes* aus Anginen angegriffen.

Diese Einteilung hat also höchstens bei einer ganz bestimmten Versuchsanordnung Wert. Wir haben sie aber doch gebracht, um die Schwierigkeiten zu zeigen, die sich einer natürlichen Gruppierung der Streptokokken entgegenstellen. Noch gar nicht dabei berücksichtigt ist die Tatsache, daß es auch sehr pathogene Streptokokken gibt, die nicht hämolysieren (§ 312), und die sämtlichen Eigenschaften der Streptokokken veränderlich zu sein scheinen (Kap. XVIII).

Die streng luftliebenden Meningokokken lassen sich nach v. Lingelsheim²⁾ am besten von ihren Verwandten unterscheiden auf Lackmus-Aszites-Agarplatten mit Zusätzen von Kohlehydraten. Sie selbst bilden nämlich Säure aus Glykose und Maltose, nicht aus Fruktose, Galaktose, Milchzucker, Rohrzucker, Inulin, Mannit und Dulzit. Ein *Diplococcus flavus pharyngis* vergärt auch Fruktose, der *Dipl. crassus* (*Meningococcus Jägers*) außerdem Galaktose, Rohr- und Milchzucker, der *Micr. catarrhalis* keinen der genannten Stoffe. Nach Roth³⁾

1) Daß sie — bei längerem Aufenthalt — regelmäßig Milchzucker in Milch und Traubenzucker im Stich zersetzen, ist ja eine alte Erfahrung.

2) Klin. Jahrb. 15, 1905.

3) Zentr. Bakt. 46. 647, 1908.

erhält man auf diese Weise auch ein Unterscheidungsmerkmal für die sonst selbst durch Serumreaktionen schwer von Meningokokken zu trennenden Gonokokken, denn sie säuern nur Glykosenährboden.

§113. **Buttersäure- und Butylalkoholgärung**¹⁾. Während die Buttersäure schon 1814 von Chevreuil gelegentlich seiner Untersuchungen über die Zusammensetzung der Fette entdeckt worden ist, hat man erst in den vierziger Jahren die Beobachtung gemacht, daß sie auch bei Gärungen entstehen könne, und zwar zunächst bei Vergärung des weinsäuren, dann des milchsäuren Kalkes (Pelouze und Gélis²⁾. 1861 führte dann Pasteur³⁾ die letztere Gärung und 1863 die erstere⁴⁾ auf die Tätigkeit von Mikroorganismen, und zwar auf Bakterien zurück, die er wegen ihrer Beweglichkeit „Infusorien“ nannte (*Vibrions butyriques*). Epochemachend wurden diese Untersuchungen dadurch, daß Pasteur die streng anaërobe Natur beider Prozesse nachwies. Prazmowski⁵⁾ studierte 1880 eine Art von Buttersäurebakterien, die er *Bacillus amylobacter* oder *Clostridium butyricum* nannte, ohne aber zu sicheren Reinkulturen zu gelangen. Deshalb haftet seinen Angaben eine gewisse Unsicherheit an. Nach ihm würde das *Clostridium* nicht nur milchsaure Salze, wie die bisher genannten, sondern auch Zuckerarten in Buttersäuregärung versetzen. Die ausgedehnten Untersuchungen von Fitz leiden ebenfalls unter dem Fehler, daß sie nicht mit Reinkulturen angestellt sind. Er wies zunächst nach⁶⁾, daß eine ganze Reihe von Substanzen, Kohlehydrate wie Rohrzucker und Stärke, höhere Alkohole wie Mannit, Glycerin, Erythrit, milchsaure und andere fettsaure Salze einer Buttersäuregärung unterliegen (vgl. § 139 ff.). 1882 beschrieb er dann genauer einen *Bac. butylicus*, der aus Rohrzucker, Mannit und Glycerin nicht nur Buttersäure, sondern auch Butylalkohol zu bilden vermochte⁷⁾. Die erste Reinkultur von Buttersäurebakterien gelang nach seinem eigenen Anspruch Hüppe⁸⁾. Doch wachsen seine Bakterien im Gegensatz zu den vorgenannten bei Sauerstoffzutritt besonders gut

1) Die Pektinvergärung, die ebenfalls eine Buttersäuregärung zu sein scheint, wurde schon § 75 besprochen, die Zellulosevergärung folgt später (§ 117). Über die Bestimmung der Säuren s. Anm. 1, S. 312; über die der Gase § 221.

2) Compt. rend. ac. sc. 16. 1262, Journ. prakt. Chem. 29, 1843.

3) Compt. rend. 52. 344 und 1260.

4) Ebenda 56. 416.

5) Über die Entwicklungsgeschichte und Formentwicklung einiger Bakterien. Dissert. Leipzig 1880.

6) Ber. chem. Ges. 1876. 1348; 1877. 276; 1878, 42; 1880. 1309.

7) Ebenda 1882. 867.

8) Mitteil. Gesundheitsamt 2. 353, 1884.

und sind nicht imstande, Zucker in buttersaure Gärung zu versetzen, sondern nur (Eiweiß? und) milchsaure Salze. Auch ist die Menge der gebildeten Säure ziemlich gering. Offenbar gehört dieser *Bac. pseudobutyricus* (K r u s e) zu der Gruppe der H e u - oder K a r t o f f e l - b a z i l l e n , von denen, wie L ö f f l e r ¹⁾ nachgewiesen hat, viele dieselbe Eigenschaft besitzen. Wir sprechen von diesen uneigentlichen Buttersäurebakterien hier nicht, ebensowenig wie von den strengen Anaërobiern, die Buttersäure n u r aus Eiweiß (s. u. und § 168) oder milchsauren Salzen (§ 142) zu bilden vermögen. Jedenfalls steht fest, daß die Buttersäurebildung aus Kohlehydraten, die uns hier allein interessiert, ganz wesentlich von strengen Anaërobiern vollzogen wird ²⁾. Wenn, wie wir schon bei Gelegenheit der Milchsäuregärung (§ 110) gesehen, hin und wieder Spuren von Buttersäure auch von nicht sporenbildenden aëroben oder fakultativ anaëroben Bakterien gebildet werden, so könnten wir wie bei den Heubazillen auch hier noch daran zweifeln, ob der Ursprung der Buttersäure in dem vergorenen Zucker zu suchen ist. Die Möglichkeit darf aber natürlich nicht von vornherein abgelehnt werden, da Übergänge allenthalben vorkommen und es neuerdings gelungen ist, echte anaërobe Buttersäurebazillen (Rauschbrandbazillen) wenigstens zeitweise zum Wachstum bei Sauerstoffzutritt zu bewegen (G r a ß b e r g e r ³⁾, vgl. u. B e i j e r i n c k und B r e d e m a n n).

Die erste anscheinend gelungene Reinkultur eines echten Buttersäurebakteriums stammt von Liborius ⁴⁾. Sein *Clostridium foetidum* ähnelt äußerlich dem *Clostridium butyricum* P r a z m o w s k i s , war aber auch ein starker Eiweißersetzer. M. G r u b e r ⁵⁾ züchtete bald darauf Bakterien, die nach seiner kurzen Angabe aus Kohlehydraten Buttersäure und Butylalkohol zu bilden vermochten (*Clostridium butyricum* I und II). P e r d r i x ⁶⁾ aus Wasser stammender *Bacillus amylozyma* hat dadurch großes Interesse für uns, daß die von ihm hervorgerufene Buttersäuregärung von dem Verfasser so eingehend, wie von keinem späteren Forscher, studiert worden ist (§ 114). Den von B o t k i n ⁷⁾ und F l ü g g e ⁸⁾

1) Berl. klin. W. 1887. 34.

2) Auch die Pektin- und Zellulosevergärung, die zum Teil eine Buttersäuregärung darstellt, wird nur von strengen Anaërobiern besorgt. Eine Erklärung für dieses merkwürdige Verhalten steht noch aus.

3) Arch. f. Hyg. 53. 158 und 60. 73.

4) Zeitschr. f. Hyg. 1. 162, 1886.

5) Zentr. Bakt. 1. 370, 1887.

6) Annal. Past. 1891.

7) Zeitschr. f. Hyg. 11, 1892.

8) Ebenda 17.

als regelmäßigen Bewohner der Milch gefundenen *Bac. butyricus* hat der erstere wahrscheinlich nicht in Reinkultur in Händen gehabt, denn die von ihm gegebene Beschreibung stimmt nicht mit der späteren sehr gründlichen von *Graßberger* und *Schattenfroh* gegebenen (s. u.) überein. Ausführliche, namentlich auch chemische Studien über diesen Gegenstand verdanken wir *Beijerinck*¹⁾: er unterscheidet den Erreger der eigentlichen Buttersäuregärung *Granulobacter saccharobutyricum*, den der Butylalkoholgärung *Gr. butylicum* und den der Buttersäuregärung milchsaurer Salze *Gr. lactobutyricum*, der in eine dem Heubazillus ähnliche aërobe Form übergehen soll. Die Butylalkoholgärung untersuchten ferner *Grimbert*²⁾ und *Duciaux*³⁾ am *Bac. orthobutylicus* und *Amylobacter butylicum*. Weitere Beschreibungen von Buttersäurebakterien mit kurzen chemischen Angaben lieferten *Kerry* und *S. Fränkel*⁴⁾ (*Ödembazillus*), *Nencki*⁵⁾ (*Rauschbrand*), *Kedrowski*⁶⁾ (*Bac. butyricus*), *Novy*⁷⁾ (*Bac. oedematis maligni* II) von *Klecki*⁸⁾ (*Bac. saccharobutyricus*), während *Lüderitz*, *Kitasato*, *Sanfelice*, *Veillon* und *Zuber*, von *Hibler*⁹⁾ sich auf das Studium der morphologischen, kulturellen und pathogenen Eigenschaften von Anaërobiern beschränkten. In der letzten Zeit wurden diese Studien auch von der chemischen Seite her wieder mehr in Angriff genommen, so namentlich von *Graßberger* und *Schattenfroh*¹⁰⁾ in ihren ausführlichen Arbeiten über saprophytische und pathogene Anaërobier, von *Bredemann*¹¹⁾ in seiner gründlichen Untersuchung der stickstoffbindenden Buttersäurebakterien, von *Achalme*¹²⁾, *Tissier* und *Gasching*¹³⁾ (*Bac. lactobutylpropylicus non liquefaciens*).

1) Verhand. kon. Akad. Wetensch. Amsterdam II. Sect. Deel I, 1893.

2) Annal. Pasteur 1893.

3) Ebenda 1895. 813.

4) Monatsh. Chem. 1890 (*Kochs Jahresber.*) und eb. 1891.

5) Zentr. Bakt. 11. 225, 1891.

6) Zeitschr. f. Hyg. 16.

7) Ebenda 17.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 169, 1896.

9) Vgl. die große Arbeit: Untersuchungen über pathogene Anaëroben, 1908, mit vollständiger Literatur. Wichtig ist sie für uns besonders durch die Untersuchungen über die Verhältnisse der Granulose- und Sporenbildung (§ 130).

10) Arch. f. Hyg. 37, 42, 48, 53 und 60 (1900—1907).

11) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23, 1909.

12) Annal. Pasteur 1902.

13) Ebenda 1903.

ferner von Winogradsky¹⁾ (*Clostridium pastorianum*), Grimbert²⁾, Ghon und Sachs³⁾, Kamen⁴⁾, Emmerling⁵⁾, Pringsheim⁶⁾. Eine systematische Darstellung der dabei erhaltenen Ergebnisse wird vor allem durch die große Wandlungsfähigkeit der Anaërobier, die alle, auch die morphologischen Verhältnisse betrifft, sowie durch die oft kaum zu überwindenden Hemmnisse, die sich der Züchtung entgegenstellen, erschwert. Daraus erklären sich die vielen Widersprüche, die zwischen den einzelnen Forschern und nicht selten zwischen den zu ungleicher Zeit gemachten Angaben derselben Forscher bestehen. Wir wollen uns hier in erster Linie an die letzte Darstellung von Graßberger und Schattenfroh und zur Ergänzung an die Bredemanns halten. Danach hätten wir außer dem Tetanusbazillus, der die Kohlehydrate nicht unter Gasbildung vergären, ja, nicht einmal aus ihnen Säure bilden soll⁷⁾, und mindestens vielen Stämmen des *Bac. putrificus*, die das nach Bienstock⁸⁾, Tissier und Martelly⁹⁾, Rodella¹⁰⁾, auch nicht in irgend erheblichem Grade zustande bringen, sowie einigen „Ödembazillen“¹¹⁾ und manchen anderen selteneren pathogenen Anaërobiern, die sich nach v. Hibler ähnlich verhalten sollen, in allen übrigen Anaërobiern auch Buttersäurebakterien zu sehen, allerdings solche, die je nach Eigenart, Behandlung und Gärmaterial die Gärung in sehr ungleichem Grade leisten.

Zwei Arten von Buttersäurebazillen heben Schattenfroh und Graßberger als besonders beständig hervor. Der eine ist der anaërobe bewegliche Buttersäurebazillus¹²⁾, der wohl mit dem *Clost. butyricum* Grubers, dem *Granulobacter saccharo-*

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23, 1909.

2) Thèse de Paris 1903.

3) Zentr. Bakt. 34 und 35 (Fall von Gasbrand).

4) Ebenda 35 (Gasbrand).

5) Ber. chem. Ges. 1904. 3535; 1905. 954.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 300, 1906.

7) Außer älteren Forschern vgl. Tissier und Gasching a. a. O. 551. v. Hibler betrachtet den Tetanusbazillus ebenfalls als reinen Eiweißzersetzer. Jedenfalls vermag er Galaktose (in Hirnnährböden) und Milchzucker (in Milch) nicht zu säuern.

8) Annal. Pasteur 1906, vgl. übrigens bei Fäulnis § 168.

9) Ebenda 1902.

10) Ebenda 1905.

11) Siehe weiter unten S. 356. Auch hier scheint es zwei Abarten, wie beim *Putrificus* zu geben. Über den *Bac. botulinus* s. u. S. 359.

12) Siehe namentlich Arch. f. Hyg. 42.

butyricum Beijerincks, Bac. saccharobutyricus v. Kleckis¹⁾, u. a. zusammenfällt, nach Bredemann sogar auch mit den stickstofffixierenden Clostridien Winogradskys, Pringsheims u. a., dem Granulobakter butylicum Beijerincks und wahrscheinlich auch mit den Pektin vergärenden Clostridien von Friebes, Behrens, Störmer, Beijerincks und van Deldens und manchen anderen Buttersäurebakterien identisch wäre. Bredemann empfiehlt für diese Bakterien den Namen Bac. amylobacter, den wir, unter der Voraussetzung, daß sich seine Auffassung bestätigt, im Interesse der Einheitlichkeit ebenfalls anerkennen möchten, wenn auch die Ausdehnung dieses Begriffs auf alle von Bredemann ins Auge gefaßten Formen (s. u.) noch Schwierigkeiten begegnet. Sie sind aus allen möglichen Stoffen, wie Erde, reinem und unreinem Wasser, Mehl, Käse, ausnahmsweise auch aus Marktmilch zu erhalten, am besten nach Beijerincks Vorschlag, indem man in ein enghalsiges Gefäß je 5 g Glykose und feingemahlenes Fibrin mit 100 g Wasser einbringt, zum Sieden erhitzt und die kochende Flüssigkeit beimpft. Nach 24 Stunden ist fast immer schon die Gärung im Gange.

Die Kohlenhydrate vergärt der Bazillus nach Schattenfroh und Graßberger sämtlich bis auf Zellulose²⁾, außerdem Glyzerin, wahrscheinlich aber nicht Mannit und auch nicht milchsaure Salze. Milchzucker (Milch) setzt der Gärung und dem Wachstum manchmal Widerstand entgegen, wird andererseits im gegebenen Fall fast ausschließlich zu Buttersäure, Wasserstoff und Kohlensäure vergoren, während aus den übrigen Kohlehydraten mehr oder weniger reichlich, ja manchmal überwiegend daneben Rechts- oder inaktive Milchsäure entsteht. Spuren von anderen Säuren, z. B. Ameisensäure, Propionsäure³⁾ treten daneben auf. Butylalkohol wurde nur in einem Versuch gefunden, sonst ebensowenig wie Äthylalkohol. Eiweiß in irgendeiner Form ist nötig zum Wachstum, wird aber nicht merkbar vergoren und reicht auch nicht zur Züchtung aus. Sporenbildung erfolgt unter dem bekannten Bilde des Clostridiums, vielfach gleichzeitig mit Granulosebildung. Bredemanns Angaben gehen über die von Graßberger und Schattenfroh noch hinaus, insofern er alle genannten Kohlenstoffquellen, einschließlich des Pektins, aber ausschließlich der Zellulose

1) Nach Achalmé auch der Bac. des Gelenkrheumatismus, der Bac. enteritidis sporogenes Kleins.

2) Pektin wird nicht genannt. Diastase (Amylase) wird dabei regelmäßig gebildet, nicht Saccharase und Laktase.

3) Namentlich bei Rauschbrandbazillen (s. u.) gefunden.

für vergärbarm hält. Allerdings gibt er nicht überall ausführlich genug den Beweis dafür, ja, vermißt die Gärung sogar ausdrücklich beim Pektin. Darauf legt er aber keinen Wert, weil auch das sicher Pektin vergärende *Clost. pectinovorum* (Beijerinck und van Delden, § 75) unter seinen Händen diese Eigenschaft verlor. Nach Bredemann ist freilich das Gärungsvermögen des *Bac. amylobacter* gegenüber den einzelnen Körpern ein sehr veränderliches. Meist soll es aber doch bei sehr reichlicher Einsaat in die betreffenden Nährböden, besonders wenn man die Wachstums- und Impfbedingungen auch noch in anderer Weise verändert, gelingen, die ursprünglich vorhandenen Widerstände zu überwinden und Gärung zu erhalten. Wenn, wie gesagt, die Beweise Bredemanns für diese seine Auffassung vielfach zu wünschen übriglassen, so ist es ihm gelungen, einwandfrei zu zeigen, daß alle seine von ihm selbst aus Erde und von anderen Forschern aus den verschiedensten Quellen gezüchteten beweglichen Buttersäurebazillen, wenn sie nur richtig behandelt werden (§ 203), die Fähigkeit besitzen, den Stickstoff der Luft zu binden. Auch was die Erzeugnisse der Gärung und die morphologischen Verhältnisse anlangt, geht Bredemann über die Angaben von Schattenfroh und Grabberger hinaus. Er ist geneigt, die beweglichen denaturierbaren und die unbeweglichen denaturierten Buttersäurebazillen dieser Forscher (s. u.) auch nur als unbeständige Varietäten des *Bac. amylobacter* zu betrachten, beschreibt außerdem sogar eine aerob und sporenfrei wachsende „kokkoide“ Abart desselben als sehr häufig und spricht selbst den Gärprodukten der typischen Formen eine erheblich schwankende Zusammensetzung zu. Auf nicht flüchtige Säuren wurde leider nicht untersucht, aber die Ausbeute an flüchtigen Säuren und Alkoholen, sowie deren Natur wechselt selbst bei ein und demselben Stamm und unter gleichen Bedingungen sehr bedeutend und kann stärker schwanken als die bei verschiedenen Stämmen. Gefunden wurden von Säuren (aus dem Bariumgehalt der Bariumsalze erschlossen) in Traubenzuckernährböden Buttersäure, Propionsäure, Essigsäure und Ameisensäure in allen möglichen Mischungen und Mengen. Bei der Alkoholausbeute spielt neben der Variabilität der Bakterien die Beschaffenheit der Kohlenstoffquelle anscheinend eine große Rolle. Nur aus Weizen- und Kartoffelmaische werden genügend große Mengen für die Analyse (fraktionierte Destillation und Siedepunktsbestimmungen) gewonnen. Über die Zusammensetzung s. § 115. Alles in allem genommen beweisen die Bredemannschen Unter-

suchungen wieder einmal schlagend die große Variabilität der Buttersäurebazillen und die nahe Verwandtschaft aller Gruppenmitglieder. Zweifelhaft bleibt aber doch noch, ob die Zusammenfassung in eine einzige Art gerechtfertigt und nicht mindestens aus praktischen Gründen die Trennung in besonders benannte *A b a r t e n* nützlich ist. Auch die Erfahrungen von *G r a ß b e r g e r* und *S c h a t t e n f r o h*, denen wir weiter folgen, sprechen doch sehr dafür.

Zunächst wird nämlich eine zweite beständige Art unserer Buttersäurebakterien von *G r a ß b e r g e r* und *S c h a t t e n f r o h* als *a n a e r o b e r F ä u l n i s b a z i l l u s* oder (besser) *f ä u l n i s e r r e g e n d e r B u t t e r s ä u r e b a z i l l u s* bezeichnet und mit dem *Bac. putrificus* *B i e n s t o c k s* (S. 353) auf Grund seiner keuligen Sporen, seiner Beweglichkeit, seiner Kolonien und des energischen Zersetzungsvermögens für Eiweiß identifiziert¹⁾, obwohl er selbst auf eiweißfreien Nährböden von löslichen Kohlehydraten wenigstens Glykose in (inaktive) *M i l c h s ä u r e*, *B u t t e r s ä u r e*, *E s s i g s ä u r e* und *Ä t h y l a l k o h o l* vergärt. Die Fäulniseinwirkung auf das Eiweiß zeigt sich besonders deutlich in Milch, in der das Kasein feinflockig gefällt und nach kurzer Zeit peptonisiert wird²⁾, während die erste Art das Kasein in dicke Klumpen ausscheidet, die durch die stürmische Gärung in die Höhe getrieben werden.

Eine dritte Art, der *Bazillus des m a l i g n e n Ö d e m s*, stehe dem *Putrificus* durch seine Fähigkeit, die Eiweißstoffe anzugreifen, sowie aus Zucker (Glykose und Saccharose) *Ä t h y l a l k o h o l* neben *M i l c h s ä u r e* und *B u t t e r s ä u r e* zu bilden, nahe, dem beweglichen Buttersäurebazillus durch die Neigung zur Clostridienform und Granulosebildung, sowie die wenigstens manchmal energische buttersaure Gärung in Milch³⁾. Der Ödembazillus unterscheidet sich abgesehen davon von den beiden ersten Arten durch seine etwas geringere Formenbeständigkeit oder, wie *G r a ß b e r g e r* und *S c h a t t e n f r o h* es ausdrücken, durch seine „Denaturierbarkeit“. Ab und zu, besonders in Kohlehydraten, wandeln sich nämlich die Bazillen um in unbewegliche und sporenfreie Ketten plumper Stäbchen.

1) Arch. f. Hyg. 60. Vgl. auch *A c h a l m e a* a. a. O. *B i e n s t o c k* bezeichnet diese Art, die er, wie andere im Gegensatz zu dem *Bac. putrificus* auch im Kot gefunden hat, als *B a c. p a r a p u t r i f i c u s*.

2) Angaben über Vergärung des Milchzuckers fehlen.

3) Arch. f. Hyg. 48. 93. Gewöhnlich fehlt sie auch nach den Protokollen *S c h a t t e n f r o h s*, wie nach den Angaben der übrigen Forscher (s. o. S. 352 u. 353), außer *K e r r y* und *F r ä n k e l*, die auch Stärkekleister (ohne vorhergehende Verzuckerung!) vergären, ja selbst milchsauren Kalk etwas zerfallen sahen und außer den übrigen Stoffen noch *E s s i g s ä u r e* und *A m e i s e n s ä u r e* fanden.

Viel mehr ausgesprochen ist diese Eigenschaft dagegen bei den daher auch als *denaturierbare* oder *dimorphe*¹⁾ *Buttersäurebazillen* bezeichneten Bakterien, die teils als harmlose Saprophyten weitverbreitet, teils als Erzeuger des Rausch- und Gasbrandes bekannt sind. Zu den völlig denaturierten Zuständen gehören die von Graßberger und Schattenfroh in ihrer ersten Arbeit als unbewegliche Buttersäurebazillen beschriebenen Bakterien, welche die von Botkin (S. 351) zuerst beschriebene Buttersäuregärung fast in jeder, eine halbe Stunde bei 100° sterilisierten Marktmilch verursachen. Sie sind durch ihre plumpe Form, Neigung zur Kettenbildung, Mangel der Beweglichkeit, Granulose- und Sporenbildung und scharf umschriebene perlmutterähnlich glänzende Kolonien ausgezeichnet. Die Erzeugnisse ihrer Gärung ähneln denen der beweglichen Buttersäurebazillen (S. 354), namentlich in Milch selbst, wo von ihnen verhältnismäßig am meisten Buttersäure, Wasserstoff und Kohlensäure gebildet wird, während in den übrigen Zuckerarten die Milchsäuregärung hier erheblich die Buttersäuregärung zu überwiegen pflegt. Alkohole wurden auch hier nicht gefunden. Unter Umständen gelingt es, diese Form in die bewegliche sporenbildende Abart, aus der sie nach Graßberger und Schattenfroh durch Denaturierung hervorgegangen sein soll, zurückzuführen. Umfassender sind aber die entsprechenden Erfahrungen bei den pathogenen Bakterien des Gasbrandes, (der Schaumorgane) und namentlich des Rauschbrandes. Die ersteren sind zuerst von Welch, E. Fränkel u. a. beschrieben worden als unbewegliche, sporenfreie Bazillen, Graßberger und Schattenfroh²⁾ erkannten ihre Übereinstimmung mit den unbeweglichen Buttersäurebazillen in morphologischer, kultureller und biochemischer Beziehung. Selbst die Tierpathogenität findet sich gelegentlich bei den Buttersäurebazillen, wie sie umgekehrt bei den Gasbrandbazillen manchmal fehlt. Die letzteren wurden dann von Graßberger und Schattenfroh, sowie von Passini³⁾ durch Züchtung z. B. auf Eiern, unter Symbiose mit *B. coli*, in schlanke, endständige Sporen bildende Bazillen oder andererseits auf Kohlehydratnährböden in *Clostridium*formen umgewandelt. Dabei

1) *Bac. dimorphobutyricus* Lehmann und Neumann. Eine andere Art *Dimorphismus* glaubte schon Beijerinck bei seinem *Granulobacter butylicum* beobachtet zu haben (s. u. § 115). Die kokkoiden Formen Bredemanns (S. 355) sind wieder andere Erscheinungen.

2) Arch. f. Hyg. 48. 58 u. 95; 60. 50.

3) Wien. klin. Woch. 1906. 21.

ändert sich auch das Zersetzungsvermögen, indem die endständige Sporen bildenden Bakterien jetzt mehr dem oben beschriebenen Typus der fäulniserregenden Buttersäurebazillen entsprechen.

Unter natürlichen Bedingungen, z. B. in Erde oder auch im erkrankten Menschen, begegnet man ebenfalls öfter den beweglichen und sporenbildenden, also noch nicht denaturierten Abarten des Gasbrandbazillus und zwar entsprechen sie durch Sporenform und Chemismus teils den „fäulniserregenden“, teils den „beweglichen“ Buttersäurebazillen. — Am stärksten entwickelt scheint die Wandlungsfähigkeit beim Rauschbrandbazillus zu sein¹⁾. Man bekommt hier mehr oder weniger rein, aber nie als beständige Zustände, bald als Erzeugnisse der künstlichen Züchtung, bald als natürliche Vorkommnisse, einerseits die beschriebenen beiden beweglichen und sporenbildenden, andererseits die unbeweglichen denaturierten Formen und die dazu passenden chemischen Leistungen zu Gesicht. Beim Rauschbrand wurden auch mehrfach clostridiumbildende Rassen beobachtet, die Milchsäure in Butter-, Propionsäure und Gase vergoren²⁾. Diese Fähigkeit macht sich zunächst dadurch bemerkbar, daß der Zuckervergärung eine Nachgärung folgt, in der die vorher gebildete Milchsäure gespalten wird, dann aber auch darin, daß der zur zuckerhaltigen und selbst zuckerfreien Peptonbouillon zugesetzte milchsaure Kalk vollständig und ziemlich stürmisch zersetzt wird. Das erinnert an ähnliche Befunde Beijerincks bei der Buttersäuregärung (s. o.) Ausnahmsweise wurde vom Rauschbrandbazillus statt der Milchsäure und neben der Buttersäure auch Bernsteinsäure gebildet. Die Möglichkeit der Überführung des Rauschbrandbazillus zur Aërobiose wurde schon früher erwähnt.

Die hier vorgetragenen Auffassungen von Grabberger und Schattenfroh haben, wie schon bemerkt, nicht überall Zustimmung gefunden. So weicht namentlich v. Hibler³⁾ gerade in einem der wichtigsten Punkte, der die Denaturierbarkeit der Anaëroben betrifft, erheblich

1) Arch. Hyg. 48; 53 u. 60.

2) Perdrix, Grimbert, Botkin, Klecki, Beijerinck, Winogradsky, Tissier und Gasching sprechen ihren Buttersäurebakterien die Fähigkeit, Laktate zu vergären, ab, nur Kerry und Fränkel fanden sie schwach entwickelt bei den Ödembazillen. Man nahm deswegen allgemein besondere Erreger für die Buttersäuregärung aus milchsauren Salzen an. Bredemann widerspricht dem (s. o. S. 354 und § 142).

3) a. a. O. S. 227 ff.

von ihr ab, indem er den Übergang des Rauschbrandes in unbewegliche Formen bestimmt leugnet und die Befunde der Wiener Forscher durch Verunreinigungen ihrer Kulturen mit Gasbrandbazillen, die aus den zum besseren Wachstum beigegebenen Fleischstückchen stammen sollen, erklärt. Leider hat v. Hibler sein großes Material nicht nach der chemischen Seite hin genügend verarbeitet. Die Bestimmungen von Graßberger und Schattenfroh lassen darüber aber, wenn wir auch die Frage nach den Ursachen der Variabilität noch als unentschieden betrachten müssen, keinen Zweifel, daß man vom chemischen Standpunkte mindestens drei Abarten der Buttersäuregärung, die man zu den beweglichen, unbeweglichen und fäulniserregenden Buttersäurebazillen in Beziehung setzen darf, zu unterscheiden hat.

In dem von Graßberger und Schattenfroh von der Buttersäuregärung entworfenen Bilde findet vorläufig keinen rechten Platz die Butylalkoholgärung. Ferner weichen der *Bac. amylozyma* Perdriz' und das *Clostridium pastorianum* Winogradsky's von dem chemischen Verhalten der gewöhnlichen Buttersäurebazillen dadurch ab, daß sie Milchsäure überhaupt nicht oder nur in Spuren, dagegen hauptsächlich Essigsäure neben der Buttersäure bilden. Aus der Arbeit Bredemann's erhellt, daß die Grenzen zwischen den verschiedenen Formen nicht in dieser Schärfe bestehen, ja, die Unterschiede vielleicht nur zufälliger Art sind. Wir werden aber im folgenden auf manche der älteren Beobachtungen zurückkommen, weil sie in chemischer Beziehung besonders gründlich gewesen sind, und sich die Tragweite der Bredemann'schen Feststellungen noch nicht vollständig übersehen läßt.

Der *Bac. botulinus* wurde von Graßberger und Schattenfroh nicht studiert. Nach van Ermenghem¹⁾ wird Traubenzucker von ihm unter Bildung von Buttersäure, Wasserstoff und Sumpfgas²⁾ zersetzt, Milchzucker und Rohrzucker nicht angegriffen.

§114. Chemismus der Buttersäuregärung³⁾. Nach der systematischen Darstellung der Buttersäuregärung und ihrer Erreger bleibt

1) K o l l e - W a s s e r m a n n, Handb. 2. 67. Nach v. Hibler (a. a. O. S. 103) soll Milchzucker doch angegriffen und Milch daher trotz der Peptonisierung ziemlich regelmäßig gesäuert werden.

2) Stammt vielleicht aus dem Eiweiß (Essigsäure), das unter Peptonisierung, aber ohne Fäulnisgeruch angegriffen wird. Sonst fehlt Sumpfgas bei der Buttersäuregärung.

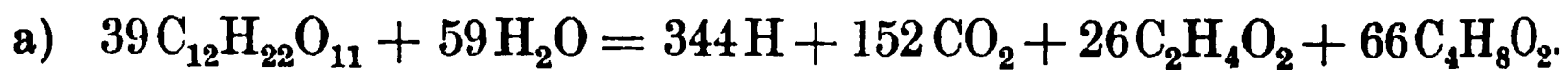
3) Literatur § 113.

es noch übrig, diese Gärung nach ihrer chemischen Bedeutung hin zu würdigen.

Eine reine Buttersäuregärung, etwa an die Seite zu stellen der reinen Milchsäuregärung, ist bisher — selbst wenn man nur die nicht gasförmigen Erzeugnisse berücksichtigt, nur ausnahmsweise beobachtet worden. So haben ja **G r a ß b e r g e r** und **S c h a t t e n f r o h** in manchen Fällen (S. 354) neben der Buttersäure weder andere flüchtige Säuren, noch nicht flüchtige und auch keine Alkohole auffinden können. Weil dabei aber die Gase nicht quantitativ bestimmt worden sind, bleibt es zweifelhaft, ob in diesem Falle der Zucker einfach in Buttersäure und die dazu gehörigen Gase nach der bekannten Formel (s. u.) gespalten worden ist. Im allgemeinen entstehen aber (vgl. **B r e d e m a n n**) neben Buttersäure noch mindestens **M i l c h s ä u r e**, häufig auch **E s s i g s ä u r e** und **A l k o h o l**, um von der **P r o p i o n s ä u r e**, die aus dem Zerfall der Milchsäure hervorzugehen scheint, und Spuren von **A m e i s e n s ä u r e**, die gerade bei den reinsten Gärungen gefunden werden, gar nicht zu reden. Es handelt sich also um Mischgärungen verwickelter Art. Klarheit da hineinzubringen, so daß man die Prozesse in Formeln kleiden kann, ist bisher nur in wenigen Fällen gelungen, wird auch dadurch noch erschwert, daß viele Buttersäurebakterien außer den Kohlehydraten auch die Eiweißstoffe sehr kräftig spalten.

Das Verständnis der Gärungen wird aber erleichtert, wenn wir, wie es schon im § 98 ff. geschehen ist, nach dem Vorgange von **D u c l a u x** die Bildung der einzelnen Produkte auf möglichst einfache Gleichungen zurückführen, mit anderen Worten, die Gesamtgärung in Teilgärungen auflösen. Das erscheint zunächst willkürlich, der Erfolg gibt uns aber in vielen Fällen recht. Vor allem spricht die oft gemachte Erfahrung, daß die Mischung der Gärprodukte, je nach dem Stadium, in dem man sie untersucht, eine wechselnde ist, für die Unabhängigkeit der einzelnen chemischen Reaktionen.

Wir sprechen zunächst von der Gärung ohne Butylalkohol. Ein vortreffliches Beispiel bietet uns die Arbeit von **P e r d r i x** (S. 351) über den *Bac. amylozyma*. Bei der Vergärung des Rohrzuckers durch diesen Bazillus in einer kreidehaltigen Nährlösung erhielt er nach 5 Tagen Buttersäure, Essigsäure, Wasserstoff und Kohlensäure in Verhältnissen, die der folgenden Gleichung (a) recht genau entsprachen:

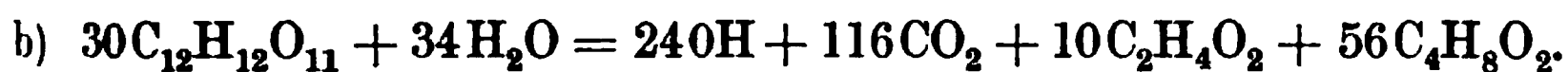


Die Abweichungen der berechneten von den gefundenen Werten waren sehr gering, wie die Taf. A zeigt:

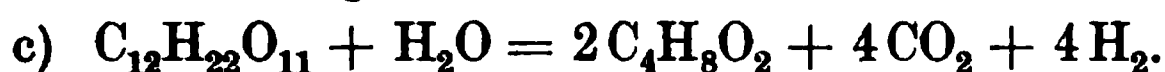
Tafel A.

	Nach 5 Tagen		Nach 11 Tagen	
	berechnet	gefunden	berechnet	gefunden
Verschwundener Zucker		1,18 g		2,44 g
Wasserstoff	0,0304 g	0,031 g	0,0575 g	0,059 g
Kohlensäure	0,591 g	0,610 g	1,22 g	1,24 g
Essigsäure	0,138 g	0,139 g	0,142 g	0,142 g
Buttersäure	0,514 g	0,526 g	1,172 g	1,180 g

Eine unter gleichen Bedingungen 11 Tage lang durchgeführte Gärung ergab die Gleichung (b):



Zieht man die bei den beiden Analysen erhaltenen Zahlen (Spalte 2 und 4) voneinander ab, so sieht man, daß die Essigsäure fast verschwindet und sich für die übrigen Stoffe, wie die Taf. B zeigt, annähernd die Formel c ergibt:



Tafel B.

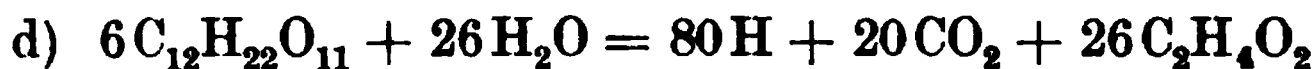
	Berechnet	Gefunden
Verschwundener Zucker		1,26 g
Wasserstoff	0,0295 g	0,0285 g
Kohlensäure	0,65 g	0,631 g
Essigsäure	—	0,003 g
Buttersäure	0,65 g	0,654 g

Die Formel c wird gewöhnlich geschrieben:

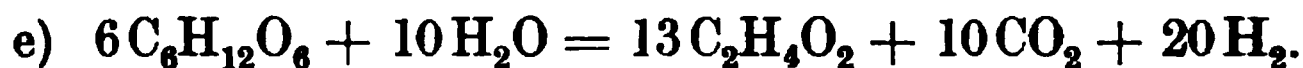


Das ist die einfachste Gleichung, nach der man sich die Entstehung der Buttersäure aus Zucker vorstellen kann. Man kann also sagen, daß zwischen dem 5. und 11. Tage die Gärung in der Weise erfolgt, daß nur Buttersäure und die entsprechenden Mengen Kohlensäure und Wasserstoff (beide Gase zu gleichen Teilen) gebildet werden. Für diesen Zeitraum kann man also von einer reinen Buttersäuregärung sprechen. Nimmt man an, daß auch in den ersten 5 Tagen die Buttersäure nach Gleichung c entstehe, so

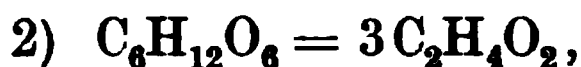
würde sich für die übrigen Produkte, indem man c 33 mal nimmt und von a abzieht, ergeben:



oder etwas anders geschrieben:



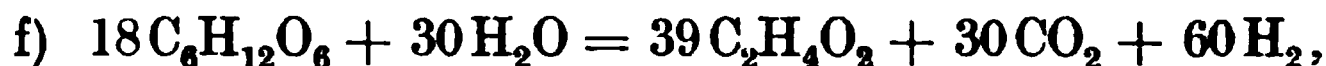
Ist nun wirklich der Prozeß so verwickelt, wie es hiernach erscheint? Ist es nicht möglich, die Bildung der Essigsäure auf die einfache Spaltung



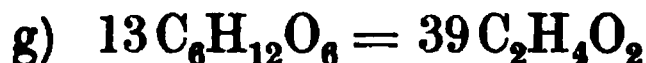
die wir schon früher (§ 98 u. 103) kennen gelernt haben, zurückzuführen und die Entstehung der Gase nach der Formel



die wir ebenfalls schon als Gleichung der „Wasserstoffgärung“ kennen (§ 98 u. 105) zu erklären? Die theoretische Möglichkeit leuchtet ohne weiteres ein: wenn wir Gleichung e 3 mal nehmen



ferner die Gleichung 2 mit 13 multiplizieren



und g von f abziehen, so erhalten wir



das ist nichts anders als die Gleichung 3 fünfmal genommen. Es fragt sich nur, ob die Essigsäure, und die Wasserstoffbildung wirklich **u n a b h ä n g i g v o n e i n a n d e r** verlaufen. Auch das läßt sich aus den Analysen von **P e r d r i x** erweisen.

Nach ihm gelten für die Zeit vom 3. bis 11. Tage der Gärung die folgenden Zahlen (Taf. C).

Tafel C.

	Volumen der aus der Zuckervergärung entwickelten Gase		Verhältnis der Gär- volumina $H_2 : CO_2$	Verhältnis der Äquivalente der Butter- säure: der Essigsäure	Kohlensäure die aus der Zerlegung d. kohlen- sauren Kalks stammt
	Wasserstoff	Kohlensäure			
3. Tag	175 ccm	95 ccm	65 : 35	26 : 74	10 ccm
4. Tag	275 „	220 „	55 : 45	60 : 40	75 „
5. Tag	350 „	310 „	53 : 47	72 : 28	90 „
11. Tag	670 „	630 „	52 : 48	85 : 15	180 „

Zunächst folgt aus vorstehender Tabelle, daß das Mengenverhältnis der bei der Gärung entwickelten beiden Gase $H_2 : CO_2$ von ungefähr 2 : 1

allmählich abnimmt auf 1 : 1 und sich der Gleichheit nähert. Leider gibt Per d r i x die Menge der Buttersäure und Essigsäure nur für den 5. und 11. Tag in absoluten Zahlen (s. o. Taf. A und B); doch finden wir in der Spalte 4 der Tabelle C das Verhältnis beider Säuren für jeden Tag und in Spalte 5 die gesamte Kohlensäuremenge, die durch die Säuren aus der der Nährlösung zugesetzten Kreide entbunden wurde. Daraus haben wir die Kohlensäuremenge, die durch jede einzelne Säure freigemacht wurde, in Spalte 1 und 2 der Tafel D berechnet.

Tafel D.

	Volumen der aus der Kreide von der	
	Buttersäure entwickelten	Essigsäure Kohlensäure
3. Tag	2,6 ccm	7,4 ccm
4. Tag	45 „	30 „
5. Tag	64,8 „	25,2 „
11. Tag	153 „	27 „

Man sieht, daß die Buttersäure am 3. Tage noch in sehr geringer Menge gebildet war und von da an erst schnell und stetig bis zum Schlusse der Gärung am 11. Tage zunahm, während die Essigsäure am 3. Tage die Buttersäure an Menge ziemlich erheblich übertraf, am 4. Tage ihr Maximum erreichte und sich dann auf dieser mäßigen Höhe hielt, so daß sie schließlich nur einen kleinen Bruchteil der gesamten Säuremenge ausmachte. Da wir wissen, daß vom 5. bis 11. Tage nur Buttersäure gebildet wurde, so entspricht die Buttersäuremenge, die 153—64,8 = 88,2 ccm CO₂ aus dem Kalk der Nährlösung entwickelte (Taf. D) 670—350 = 320 ccm Wasserstoff und 630—310 = 320 ccm Kohlensäure, die gleichzeitig bei der Vergärung des Zuckers entstanden (Taf. C); oder 1 ccm der Kohlensäure aus dem Kalk entspricht $\frac{320}{88,2} = 3,6$ ccm Gärungswasserstoff und ebensoviel Gärungskohlensäure. Durch Multiplizieren der Zahlen aus Spalte 1 der Tafel D mit 3,6 erhalten wir also die Gasmengen, die auf Rechnung der Buttersäurebildung nach Formel 1 fällt, und zwar sind sie gleich groß für Kohlensäure und Wasserstoff. Wir geben sie in der 1. Spalte der Tabelle E. Durch Subtraktion dieser Ziffern

Tafel E.

	Menge der bei der Buttersäure- bildung erzeugten Gase (H ₂ oder CO ₂)	Menge der bei der Essigsäurebildung erzeugten Gase	
		H ₂	CO ₂
3. Tag	9 ccm	166	86
4. Tag	162 „	113	58
5. Tag	232 „	118	78
11. Tag	551 „	119	79

von denjenigen, die in Taf. C (Spalte 1 und 2) für die g e s a m t e n bei der Gärung entwickelten Gasmengen angegeben sind, bekommen wir die Gasmengen, die neben der Essigsäure gebildet worden sind (Spalte 2 und 3 der Taf. E).

Wenn man aus diesen letzten Zahlen irgendeinen Schluß ziehen soll¹⁾, so kann es nur der sein, daß schon am 3. Tage die Gase fertig gebildet waren, während Taf. D uns lehrt, daß höchstens ein Drittel der überhaupt erzeugten Essigsäure an diesem Tage vorhanden war. Mit anderen Worten: die Wasserstoffgärung ist u n a b h ä n g i g von der Essigsäuregärung. Wir haben also bei der Gärung des *Bacillus amylozyma* auf Grund der Analysen von Perdrix drei Teilgärungen, die zeitlich verschieden verlaufen, feststellen können. Zuersterfolgt die Wasserstoffgärung²⁾ nach Formel 3. Während diese sich ihrem Ende nähert, setzt die Essigsäuregärung nach 2 ein, sie dauert auch nur kurze Zeit. Den Schluß macht die Buttersäuregärung nach 1, die das Feld dauernd behauptet. Man könnte sich vorstellen, daß drei verschiedene E n z y m e bei dieser Gärung nacheinander in Tätigkeit treten. Der Nachweis fehlt aber bis jetzt, ist auch bei den Buttersäurebakterien gar nicht versucht worden.

Für diese experimentell begründete Deutung ergibt sich eine Schwierigkeit, die auf dem Gebiet der T h e r m o c h e m i e liegt. Allerdings geht der Prozeß der Buttersäurebildung unter Entwicklung von Wärme vor sich. Es gilt nämlich

$$1) \quad 673,7 = 522,7 + 136,8 + 14,2 \text{ Kal.}$$

1) Die Übereinstimmung der Zahlen läßt freilich zu wünschen übrig, besonders groß ist der Abfall der Gasmenge vom 3. zum 4. Tage. Dabei ist aber gerade an diesem Tage das Verhältnis des Wasserstoffs zur Kohlensäure das durch die Theorie geforderte, während es am 5. oder 11. Tage erheblich davon abweicht. Die Ursache für die erste Unregelmäßigkeit kann wohl kaum allein in Fehlern der Analyse gelegen sein, eher in dem ungleichen Fortschreiten der Gärung, in den einzelnen Kulturgefäßen, die zur Gärung benutzt wurden. Maßgebend ist aber für unser Urteil, daß am 3. Tage die Menge der Essigsäure zu der des gleichzeitig gebildeten Gases in einem ganz anderen Verhältnis steht, als am 4. Tage. Der Unterschied zwischen $\frac{7,4}{86}$ und $\frac{30}{58}$ ist so groß, daß er nicht zufällig sein kann.

2) Ob dabei als Zwischenerzeugnis Ameisensäure gebildet wird, wie es von F r a n k l a n d und H a r d e n für gemischte Milchsäuregärungen angenommen wird (§ 108), ist zweifelhaft. Jedenfalls müßte die Ameisensäure durch den *Bac. amylozyma* schnell wieder in Kohlensäure und Wasserstoff zerlegt werden.

Ebenso ist die Spaltung des Zuckers in 3 Moleküle Essigsäure ein exothermer Vorgang:

$$2) \quad 673,7 = 639,9 + 33,8 \text{ Kal.}$$

Aber die Wasserstoffgärung läßt eine beträchtliche Menge von Wärme verschwinden:

$$3) \quad 673,7 = 820,8 - 147,1 \text{ Kal.}$$

Wodurch wird dieser Energieaufwand bestritten? Die Wärme, die bei der Essigsäurebildung frei wird, reicht dazu selbst am 5. Tage noch nicht aus. Denn aus Gleichung e folgt:

$$e) \quad 4042,2 = 2772,9 + 1368 - 98,7 \text{ Kal.}$$

Erst das Hinzutreten der eigentlichen Buttersäuregärung macht den Prozeß am 5. Tage zu einem exothermen. Nach Gleichung a gilt nämlich:

$$a) \quad 52755,3 = 11764,8 + 5545,8 + 34498,2 + 946,5 \text{ Kal.}$$

Da nun aber am 3. Tage die Menge der Buttersäure verschwindend klein und die der Essigsäure dreimal geringer ist als am 5. Tage, während die Wasserstoffgärung schon abgelaufen ist, so ergibt sich ein bedeutendes Wärmedefizit. Aus sonstigen Zerfallsprozessen im Zuckermolekül kann der Verlust nicht beglichen werden, da die zersetzte Zuckermenge nach *Perdrix* sich deckt mit der Summe der Gärprodukte (vgl. Taf. A). Kaum ist daran zu denken, daß die Verwandlung des Rohrzuckers in Traubenzucker durch ein hydrolytisches Enzym die nötige Wärme lieferte. Ebensowenig berichtet *Perdrix* von einer besonders energischen Zersetzung der Eiweißsubstanzen des Nährbodens. Die Gelatine wird von dem *Bazillus* nicht einmal verflüssigt. Es bleibt also eine Lücke in unserer Beweisführung, die um so bedauerlicher ist, als die Gärung des *Bac. amylozyma* die einzige Buttersäuregärung ist, die gründlich, d. h. mit Berücksichtigung aller Gärprodukte, untersucht worden ist.

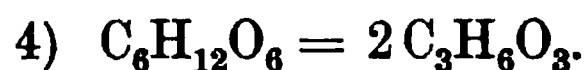
Unser Interesse an dieser Gärung steigt noch dadurch, daß *Perdrix* das Verhalten seines *Bazillus* auch gegenüber anderen Kohlenhydraten, wenn auch nicht in derselben umfassenden Weise, geprüft hat. Von den Zuckerarten wurden Glykose und Laktose anscheinend in ähnlicher Weise zerlegt wie Saccharose, ganz anders dagegen die Stärke. Er bildet zunächst ein hydrolytisches Enzym, das die Stärke spaltet in einen durch Hefe vergärbaren, glykoseähnlichen Zucker und etwas Dextrin, bei der Gärung aber viel Äthylalkohol, Buttersäure, Kohlensäure und Wasserstoff, weniger Essigsäure und Amylalkohol. Wir finden also hier außer den Stoffen, die auch bei der Vergärung der Zuckerarten entstehen, noch in beträchtlicher Menge zwei Alkohole. Liegt das daran, daß die letzteren direkt aus der Stärke hervorgehen, oder an der verschiedenen Natur des Zuckers, der aus diesem entsteht? *Perdrix* bleibt uns die Antwort darauf schuldig. Er macht aber die Bemerkung, daß der Amylalkohol¹⁾, der bekanntlich bei der alkoho-

1) *Pringsheim*, Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 307 hält den Nachweis des Amylalkohols durch *Perdrix* gar nicht für erbracht (s. u. Butylalkoholgärung § 115).

lischen Vergärung des Stärkezuckers entsteht, wahrscheinlich fremden Mikroorganismen, von der Art des *Bac. amylozyma*, seinen Ursprung verdanke, denn die Hefe sei nicht imstande, aus dem Zucker der Kartoffelkulturen dieses Bazillus einen anderen Alkohol als den gewöhnlichen zweiatomigen zu erzeugen. Wie wir gesehen haben, ist neuerdings die Entstehung des Amylalkohols bei der Hefegärung in anderer Weise (aus dem Leuzin) erklärt worden (S. 261).

Die Bildung des Aethylalkohols wird wohl in der gewöhnlichen Weise zu deuten sein, nur daß hier ein besonderes, von der Zymase etwas verschiedenes Enzym in Frage käme (s. u.).

Wie es scheint, werden Essigsäure und Gase allein neben Buttersäure nicht allzu oft gebildet, so z. B. außer von den *Perdrix* schen Bazillen von dem *Clostridium Pastorianum*, dem bekannten stickstofffixierenden Bakterium *Winogradsky*¹⁾ (§ 203). Bei ihm sollen sich wenigstens (aus Glykose) Milchsäure und Äthyl-, Propyl- oder Butylalkohol nur in kleinen Mengen und nicht stets nachweisen lassen. Stärke und Milchzucker werden von ihm übrigens nicht angegriffen. *Bredemann*s zahlreiche Analysen sprechen auch für das verhältnismäßig seltene Vorkommen der Essigsäure (a. a. O. Tab. II—IV auf S. 527 ff.). Immerhin bestimmte er einige Male den Bariumgehalt seiner Fettsäuresalze auf 51—53,7%, was der Essigsäure entsprechen würde. Meist wurde bei der Buttersäuregärung die Essigsäure überhaupt nicht oder in geringer Menge, statt ihrer aber Milchsäure und Äthylalkohol gebildet. Schon die älteren Forscher erwähnen die Bildung beider Stoffe, so *Kerry* und *Fränkel* beim Ödembazillus; *Nencki* fand beim Rauschbrandbazillus Milchsäure neben Essigsäure, *Botkin* bei seinem *Bac. butyricus* Milchsäure neben Butylalkohol (s. u.). Aber erst *Graßberger* und *Schattenfroh* haben den wichtigen Anteil, den die Milchsäure an der Buttersäuregärung hat, betont. Wir verweisen in dieser Beziehung auf das früher Gesagte. Die Bildung der Milchsäure stellen wir uns nun in der Weise vor, daß sie durch ein besonderes Enzym oder Teilenzym erfolgt nach der bekannten Gleichung der Milchsäuregärung (§ 98 u. 99)

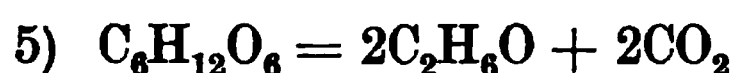


Beiden unbeweglichen (denaturierten) Buttersäurebakterien und ihren verwandten Abarten, den Gasbrand- und Rauschbrandbazillen, würde das Milchsäureferment gegenüber dem eigent-

1) *Pringsheim*, Zentr. Bakt. 2. Abt. 9, 1902.

lichen Buttersäureferment überwiegen, bei den beweglichen sporenbildenden hinter ihm mehr zurücktreten; für die Spaltung des Milchsuckers käme es weniger in Betracht, als für die übrigen Zuckerarten.

Ebenso haben Graßberger und Schattenfroh die Alkoholbildung für die Ödembazillen und ihre „fäulniserregenden Buttersäurebazillen“ bestätigt. Sie könnte gleichfalls durch ein von dem Buttersäureferment unabhängiges zymaseähnliches Enzym erfolgen und den Zucker nach der bekannten Gleichung (§ 98 u. 104)



zersetzen. Wie man sieht, würde die Zusammensetzung der bei diesen Arten der Buttersäuregärung entstehenden Gase durch die Bildung von Kohlensäure neben Alkohol beeinflußt werden. Im übrigen kommen aber dafür die früher besprochenen Vorgänge der reinen Buttersäure- und der Wasserstoffgärung in Frage. Daß die letztere in der Tat auch hier mitwirkt, ist nicht zu bezweifeln, denn Graßberger und Schattenfroh haben meist ein erhebliches Übergewicht des Wasserstoffs über die Kohlensäure gefunden. Gleichzeitige Mengenbestimmungen der gasförmigen und nicht gasförmigen Gärungserzeugnisse sind von ihnen nicht gemacht worden, so daß wir genaue Gärungsgleichungen nicht aufstellen und die Berechnung der Wärmeverhältnisse nicht ausführen können.

Bredemann gibt keine Zahlen für Milchsäure an, bestätigt aber ihr Vorkommen bei seinen beweglichen Buttersäurebazillen. Von Alkoholen fand er dabei nur höher siedende (s. u.).

§ 115. Buttersäure- und Butylalkoholgärung¹⁾. Nach der Literatur sind weniger als die bisher besprochenen verbreitet solche Bakterien, die regelmäßig außer Buttersäure usw. noch Butylalkohol bilden. Dahin gehören der *Bac. orthobutylicus* Grimberts, das *Granulobacter saccharobutyricum* Beijerincks, das *Amylobacter butylicum* Duclauxs u. a. m. Der sog. *Bac. butylicus* von Fitz erzeugt dagegen aus Rohrzucker nur Spuren von Butylalkohol und nach Emmerling²⁾ aus Glykose überhaupt keinen Butyl-, sondern nur Äthylalkohol³⁾. Er verdient also seinen Namen, soweit die Zuckerarten in Betracht kommen, nicht, sondern wäre hier besser als Buttersäurebazillus zu bezeichnen. Doch

1) Literatur s. o. § 113.

2) Ber. chem. Ges. 1897. 451.

3) Weitere Angaben über dessen Vorkommen im vorigen Paragraphen.

ändert er seinen Charakter, wenn ihm höhere Alkohole (Mannit, Glycerin) geboten werden (vgl. § 131).

Weitere Angaben über Butylalkoholbindung sind gemacht worden von N e n c k i für die Vergärung des Milchzuckers durch das Zusammenwirken des Ödembazillus mit einem echten Milchsäurebakterium (*Micr. acidi paralactici*) und von B o t k i n für seinen *Bac. butyricus*. Nimmt man mit G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h (s. o. S. 352) an, daß B o t k i n keine Reinkultur in Händen gehabt hat, so hätten wir vielleicht in beiden Fällen die merkwürdige Tatsache zu verzeichnen, daß zwei Bakterienarten in Symbiose miteinander neue Stoffe erzeugt hätten, zu deren Bildung sie allein nicht imstande gewesen wären (S. 170).

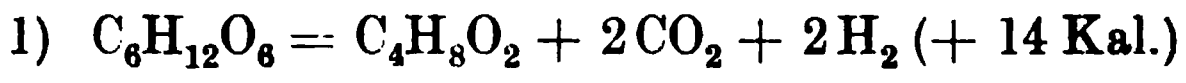
Reine Butylalkoholgärung veranlaßt nach B e i j e r i n c k s ersten Mitteilungen das *Granulobacter butylicum*. Schließlich hatten G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h, Winogradsky, Pringsheim, Bredemann wechselnde Befunde bei ihren Buttersäurebakterien.

Am besten studiert ist der *Bac. orthobutylicus*¹⁾, den wir deshalb etwas näher besprechen wollen. Leider hat G r i m b e r t die Gasproduktion seines Bazillus nicht gleichzeitig mit den übrigen Stoffen untersucht. Nur eine Gasanalyse liegt vor, sie ergibt andere Verhältnisse, als P e r d r i x beim *Amylozyma* gefunden. In Glykosebouillon ohne Kreidezusatz wurden bis zum 4. Tage Wasserstoff und Kohlensäure ungefähr zu gleichen Teilen mit geringem Überschuß der ersteren entwickelt, dann sank aber das Verhältnis $H_2 : CO_2$ bis zum 13. Tage auf $\frac{1}{3}$ und bis zum 22. fast auf $\frac{1}{4}$. Die genauen Zahlen waren folgende:

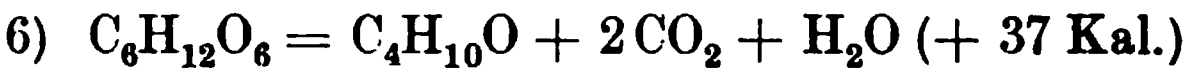
Tafel A.

Gasentwicklung	H ₂	CO ₂	H ₂ : CO ₂
bis zum 4. Tage	11,7 ccm	10,0 ccm	1,16
vom 4.—13. Tage	11,2 „	32,8 „	0,34
vom 12.—32. Tage	1,9 „	6,9 „	0,28
im ganzen	24,8 ccm	49,7 ccm	0,50 ccm

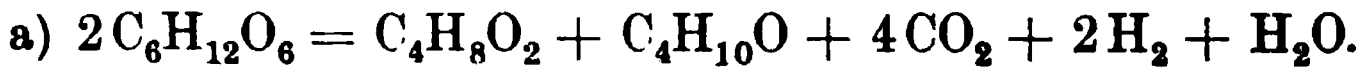
Wenn man zu der schon bekannten Formel für die Buttersäure (S. 361)



eine neue möglichst einfache für den Butylalkohol



hinzufügt, so erhält man



1) Vgl. auch D u c l a u x , Microbiol. 4. 61.

Hier stehen Wasserstoff und Kohlensäure in dem Verhältnis 1 : 2, wie es dem Endresultat in der obigen Tafel A entspricht. Das Auftreten von Essigsäure ändert nichts an dem Verhältnis der Gase, denn es erfolgt, wie wir wissen (S. 362) ohne Entwicklung von Gasen durch Spaltung des Zuckermoleküls nach Formel 2) $C_6H_{12}O_6 = 3C_2H_4O_2$.

Die Gärung verläuft aber nicht immer so einfach, wie es obige Gleichungen andeuten, denn in einem ähnlichen Versuch mit Glykose-lösung und K r e i d e , in dem leider nur die nicht gasförmigen Stoffe bestimmt wurden, ergab sich (Taf. B), daß Buttersäure und Essigsäure am 2. Tage schon in der Menge gebildet waren, die sie überhaupt er-reichten, von diesem Tage an aber die Buttersäure beständig abnahm und der Butylalkohol, der vorher schon stark überwog, noch etwas zunahm.

Tafel B.

	Butylalkohol	Buttersäure	Essigsäure	
nach 2 Tagen	254°/00	74°/00	39°/00	in °/00 des verschw. Zuckers
nach 4 „	308°/00	40°/00	40°/00	
nach 20 „	316°/00	20°/00	40°/00	

Anders fiel ein zweiter Versuch mit Glykoselösung aus, in dem die gebildete Säure durch Kreide neutralisiert wurde. Auch hier war am 2. Tage schon

Tafel C.

	Butylalkohol	Buttersäure	Essigsäure
nach 2 Tagen	148°/00	331°/00	91°/00
nach 4 „	135°/00	345°/00	78°/00
nach 20 „	155°/00	322°/00	43°/00

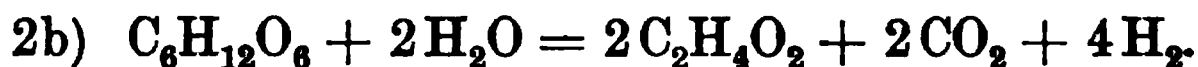
die Gärung wesentlich abgeschlossen; die Buttersäure herrschte dieses Mal aber bei weitem vor und blieb ebenso wie der Butylalkohol erhalten, während die Essigsäure abnahm. Offenbar wird die Gärung durch die Reaktion stark beeinflusst und die Säuren unterliegen nachträglichen Veränderungen. Da es sich um Wirkung des freien Sauerstoffs bei dieser streng anaëroben Gärung nicht handeln kann, so werden wir intramolekulare Umsetzungen annehmen müssen, die wohl unter Einwirkung der Elemente des Wassers verlaufen, wie wir sie schon bei der Wasserstoffgärung (3 auf S. 362) kennen gelernt haben, nur daß hier das

Butter- und Essigsäuremolekül angegriffen wird, etwa in der Art der Formeln:



Beide Gärungen sind allerdings bisher noch nicht allein für sich nachgewiesen worden (vgl. § 145 u. 141), vielleicht nur aus dem Grunde, weil sie wegen ihrer endothermen Natur allein nicht vorkommen können.

Es ist leicht zu sehen, daß mit den Formeln 1 bis 6 nicht alle Möglichkeiten erschöpft sind; so kann die Bildung der Buttersäure und Essigsäure aus dem Zuckermolekül auch unter Beteiligung des Wassers erfolgen, etwa in der Weise



Im Grunde wäre das aber nichts anderes, als eine Verbindung der Essigsäuregleichung mit der Wasserstoffgleichung.

Welche von diesen Möglichkeiten in Wirklichkeit bei der Gärung des *Bac. orthobutylicus* in Betracht kommt, ist mit Sicherheit nicht anzugeben, da zu wenig Gasanalysen vorliegen.

Nicht allein die Reaktion der Nährlösung hat einen Einfluß auf den Verlauf der Gärung, sondern, wie *Grimbert* nachgewiesen, auch die Veränderlichkeit des *Bazillus* selbst. Wird zur Einsaat eine ältere Kultur benutzt, so ist das Verhältnis der Gärprodukte ein anderes, als bei Impfung mit einer jüngeren. Ein *Bazillus*, der längere Zeit in Inulinlösungen gezüchtet ist, erzeugt darauf wenig oder keinen Butylalkohol, von da auf Glykose übertragen aber mehr als, gewöhnlich; umgekehrt ist er, längere Zeit auf Glykose gezüchtet, imstande, auch in Inulinlösungen viel Butylalkohol zu bilden.

Wie man sieht, verhält sich auch das Gärmaterial verschieden. *Grimbert* hat das für die echten Kohlehydrate näher festgestellt. Vergärbare sind von den Hexosen außer Glykose Galaktose, schwieriger Fruktose. Die Disaccharide werden vergoren, aber in ungleichem Verhältnis, am schwierigsten die Laktose. Dabei findet anscheinend vorher keine hydrolytische Spaltung zu Hexosen statt. Auch aus den zerriebenen Bakterienzellen läßt sich keine Invertase gewinnen. Die Arabinose, eine Pentose, gibt bei der Gärung nur Butter- und Essigsäure, keinen Butylalkohol. Von dem veränderlichen Verhalten des Inulins wurde schon gesprochen, es vergärt, ohne vorher in einen reduzierenden Zucker gespalten zu sein. Diastatische Leistungen scheint der *Bazillus* dagegen zu besitzen, denn Dextrin und Stärke werden vor der Vergärung verzuckert, doch

werden auch hier wieder die Gärprodukte in sehr wechselnder Mischung erzeugt, je nachdem man Kartoffeln, reine Stärke oder Dextrin benutzt. Auch Glyzerin und Mannit werden in ähnlicher Weise vergoren.

Können wir bei dem *Bac. orthobutylicus* eine große Mannigfaltigkeit der Gärungserscheinungen beobachten, so soll die durch das *Granulobacter butylicum* hervorgerufene Gärung eine einfachere sein. Nach *Beijerinck* wäre das Hauptprodukt der Gärung¹⁾ von gewissen Mehlsorten (nackter Sommergerste) Butylalkohol. Daneben würde noch etwas Propylalkohol, viel Wasserstoff und Kohlensäure, kein Sumpfgas gebildet. Diese Angaben *Beijerinck*s sind aber bisher von keiner Seite bestätigt worden. *Beijerinck* selbst hat in einer späteren Mitteilung bemerkt, sein Bazillus erzeuge mehr Propylalkohol als Butylalkohol. *Bredemann*, der mit einer *Beijerinck*schen Kultur arbeitete, fand erhebliche Mengen von Alkoholen überhaupt nur auf Weizenkleie, und zwar weit weniger Butyl- als niedriger siedenden Alkohol (darunter Isopropylalkohol), daneben aber hier wie in Glykose erhebliche Mengen flüchtiger Säuren. Auch die sonstigen Angaben über die Butylalkoholbildung deuten auf große Schwankungen in seiner Bildung. *Winogradsky*s *Clostridium Pastorianum* erzeugt (aus Glykose) entweder überhaupt nur Spuren von Alkohol oder bald Äthyl-, bald Butyl-, bald Isobutylalkohol. Das *Pringsheim*sche *Clostridium americanum* bildete in den Händen seines ersten Untersuchers 1 Teil Isopropyl- auf 4 Teile Normalbutylalkohol, in *Bredemann*s Versuchen dagegen verhältnismäßig viel Isobutylalkohol. Daß *Graber* und *Schattenfroh* bei ihren beweglichen Buttersäurebazillen nur ausnahmsweise Butylalkohol gewinnen konnten, wurde schon früher erwähnt (S. 354). Wahrscheinlich liegt das zum großen Teil an dem gewählten Nährboden, denn auch *Bredemann* sah, wie wir bemerkten (S. 355) Alkoholbildung bei den zahlreichen von ihm geprüften Stämmen des *Bac. amylobacter* auch nicht in wesentlichem Umfange in Glykoselösungen oder Milch eintreten, sondern nur in Aufgüssen von Weizenmehl bzw. Weizenkleie oder Kartoffelbrei. Die gewonnenen Mengen schwankten dabei auch noch sehr, ohne daß sich dafür eine Ursache auffinden ließ. Ob es Zufall ist, daß von den einzelnen Stämmen gerade das *Granulobacter butylicum* am meisten Alkohol bildete (25 ccm aus 1000 g), mag dahingestellt bleiben. Ebenso

1) Man erhält sie am besten, wenn man in 50—100 ccm luftfreies kochendes Wasser in einem engen Becherglas nach und nach so viel grob gemahlenes nicht gesiebtes frisches Mehl einführt, bis das Ganze dickbreiig wird; die letzte Mehlportion darf dabei nur wenige Sekunden 100° ausgesetzt werden. Dann sofort Übertragung in eine Temperatur von 36°.

ließ sich für die Zusammensetzung der Alkohole keine andere Regel aufstellen, als daß der Äthylalkohol kaum einen Anteil daran hatte. Zu bedauern ist, daß Bredemann seine positiven Resultate nicht in reinen Kohlehydratnährböden erzielt hat, weil durch die Beimischung von Aminosäuren im Weizenmehl und in den Kartoffeln nach F. Ehrlich eine andere Quelle für die Alkoholbildung gegeben ist (§ 90 u. 173). Man kann also vorläufig noch nicht entscheiden, ob Pringsheim Recht hat, wenn er betont, daß bei der Buttersäuregärung vorwiegend normaler, bei der Hefegärung (§ 90) Isobutylalkohol und umgekehrt bei der letzten normaler, bei der ersteren Isopropylalkohol entstünde. Nur das ist nach den Befunden Nawiasky bei der Zersetzung des Leuzins durch Proteusbazillen sicher (§ 169), daß die weitere Annahme Pringsheims, Amylalkohol werde von Bakterien höchstens in Spuren, von der Hefe aber gerade in größerer Menge als die übrigen Bestandteile des Fuselöls (aus Aminosäuren) erzeugt, nicht begründet ist. Wenn die Angaben Perdrix richtig sind (S. 365), würde der Satz nicht einmal gelten, wenn man ihn auf die Buttersäurebakterien beschränkte.

Nach alledem würde man weitere Untersuchungen über die Butylalkoholgärung gerne sehen. Genaue Angaben über die erzeugten Mengen und über das Verhalten der einzelnen Kohlenhydrate bei der Gärung fehlen bei Beijerinck. Auffällig ist die Bemerkung, daß das Verhältnis von CO_2 : H_2 im Laufe der Gärung sehr bedeutend schwankt; es beträgt zuerst, wo der Butylalkohol noch fehlt, 1 : 4, später, während der Hauptgärung, d. h. zur Zeit des schnellsten Bakterienwachstums und der reichlichsten Butylalkoholbildung, 1 : 1 und steigt zuletzt auf 5 : 1. Offenbar erschöpft die Formel 6 (s. o. S. 368) nicht die Gärungserscheinungen. Daneben müssen wir mindestens am Anfang noch eine Wasserstoffgärung nach Formel 3 voraussetzen. Der Überschuß des Wasserstoffs wird aber auch dadurch noch nicht erklärt. Es müßten also nebenher noch aus dem Zucker kohlenstoff- und sauerstoffreiche und wasserstoffarme Körper entstehen, wie z. B. Bernsteinsäure (vgl. § 107) oder Ameisensäure (§ 108), bei deren Bildung Kohlensäure verschwindet. Beijerinck bestreitet allerdings, daß aus Maltose von dem echten Butylbazillus außer Kohlensäure Säuren überhaupt gebildet würden, nur die schwächlichen Abarten desselben erzeugten aus Glyzerin etwas Buttersäure und stellten somit einen Übergang zu dem *Granulobacter saccharobutyricum* dar (s. u.).

Wie die meisten Buttersäurebakterien bildet das *Granulobacter butylicum* auch nach Beijerinck diastatische Enzyme, mit denen es Stärke verzuckert, und erzeugt in seinem eigenen Leibe gleichzeitig wieder Stärke aus Zucker unter Clostridiumbildung. Am Ende der

Gärung verschwindet aber auch diese wieder aus den Bakterien, letztere scheinen sich dabei teilweise aufzulösen. Zellulose wird nicht angegriffen.

Eigentümliche Angaben macht *Beijerinck* noch über das Sauerstoffbedürfnis und die Variabilität seines Bakteriums. Im Anfange der Gärung, so lange Sauerstoff vorhanden ist und der Butylalkohol noch fehlt, sind die Stäbchen schlank, sehr beweglich und teilweise zu Ketten verbunden, granulosefrei, während der Hauptgärung, bei der die letzten Spuren des Sauerstoffs verbraucht sind, werden sie plumper, weniger beweglich, nehmen Clostridienform an, bilden reichlich Granulose und Sporen. Auch die daraus hervorgehenden Kolonien sind verschieden und erzeugen im Gärmaterial nicht die gleichen Stoffe, so daß es sich um Abänderungen handelt, die bis zu einem gewissen Grade vererblich sind.

Auch sonst ist der Butylalkohol nach *Beijerinck* kein seltenes Gärprodukt. In wechselnder, aber kleiner Menge wird er z. B. von dem *Granulobacter saccharobutyricum*, das nach dem Verfasser der Haupterreger der Buttersäuregärung sein soll und wahrscheinlich identisch ist mit den beweglichen Buttersäurebazillen von *Schattenfroh* und *Graßberger* (s. o. S. 353), aus Glykose und Maltose erzeugt. Auch das *Granulobacter Polymyxa*, ein fakultativ anaërobes Clostridium, bildet nach *Beijerinck* aus Malzwürze etwas Butylalkohol und viel Kohlensäure, dagegen keinen Wasserstoff und keine Buttersäure.

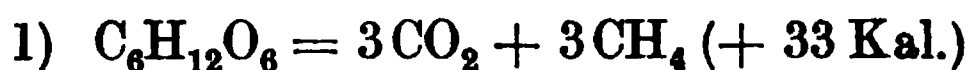
§ 116. **Bedeutung der Buttersäuregärung.** So wichtig die Milchsäuregärung für die Gewerbe ist, so wenig Bedeutung besitzt die Buttersäuregärung. Im allgemeinen kommen die Buttersäurebakterien nur als Schädlinge in Betracht, so z. B. in dem Brennereigewerbe¹⁾. Offenbar ist die Buttersäure ein starkes Gift für die Hefe. Man bekämpft die falsche Gärung zweckmäßig durch Milchsäure, sei es, daß man sie als solche zusetzt, sei es, daß man sie durch (lange) Milchsäurebakterien erzeugen läßt (§ 96 u. 111). Zunächst erscheint es merkwürdig, daß die Buttersäurebazillen die Milchsäure, die sie doch selber ebenfalls produzieren, nicht vertragen. Das liegt aber daran, daß sie selber nur schwachen Säuregraden angepaßt sind: 1—2‰ bildet gewöhnlich schon die Grenze, die ihnen ein Ziel setzt. Die echten Milchsäurebakterien vertragen bekanntlich viel mehr (§ 101).

Die Buttersäure wird nur wenig zu gewerblichen Zwecken benutzt — z. B. zur Darstellung von Fruchtäthern. Man gewinnt sie aus der

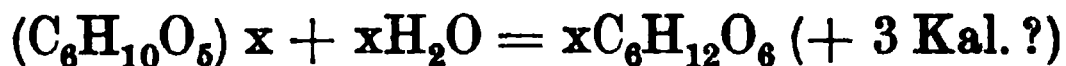
1) Nur ausnahmsweise freilich durch Bildung von höherem Alkohol (Butylalkohol, nicht Amylalkohol, *Pringsheim* s. o. S. 372.).

früher beschriebenen durch die beweglichen Buttersäurebazillen verursachten Gärung (S. 354).

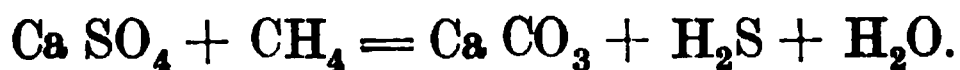
§ 117. **Vergärung der Zellulose und des Gummis. Sumpfgasgärung.** Während wir gesehen haben, daß alle anderen natürlich vorkommenden Kohlenhydrate den in den vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Zersetzungen verfallen können, haben wir, außer Schimmelpilzen, die durch ihr hydrolytisches Enzym wirken (§ 76), bisher noch keinen Mikroorganismus kennen gelernt, der auch die Zellulose angriffe. Doch gibt es solche. Schon *Mitscherlich*¹⁾ hatte 1850 die Beobachtung gemacht, daß in Wasser faulende Kartoffelscheiben allmählich sich auflösten und hatte die Ursache dafür sogar „Vibrionen“, zugeschrieben. *Popoff*²⁾ und *Hoppe-Seyler*³⁾ studierten dann die sich dabei abspielenden chemischen Vorgänge genauer und identifizierten sie mit der schon länger bekannten „Sumpfgasgärung“, die im Schlamm von Flüssen und Teichen und im Darne von Tieren vorkommt. Sie verfahren dabei in der Art, daß sie zellulosehaltige Pflanzenteile oder auch schwedisches Filtrierpapier, d. h. reine Zellulose, mit etwas Schlamm unter Luftabschluß gären ließen und die dabei erhaltenen Gase untersuchten. Während *Popoff* Kohlensäure, Sumpfgas und Wasserstoff in wechselnden Verhältnissen fand, fehlt nach *Hoppe-Seyler* der Wasserstoff ganz, und das Sumpfgas überwiegt zunächst gegenüber der Kohlensäure sehr erheblich, bis sich schließlich das Gleichgewicht zwischen beiden Gasen herstellt. Da andere Produkte nicht festgestellt werden konnten, würde die Gärung dem Zerfall des Kohlenhydrats in gleiche Teile Kohlensäure und Sumpfgas nach der Formel



entsprechen. Vorausgesetzt ist dabei, daß die Zellulose vorher hydrolysiert wird:



Das Gasverhältnis änderte sich in dem Falle, daß reduzierbare Stoffe, wie Sulfate, Eisen- oder Manganoxyd in der Gärflüssigkeit vorhanden waren; dann bildete sich durch Einwirkung des Sumpfgases Schwefelwasserstoff



Für die Zellulosevergärung im Darne der Pflanzenfresser fand *Tappeiner*⁴⁾ in seinen gründlichen Untersuchungen sehr ver-

1) Monatsh. Akad. Wissensch. Berlin 104, 1850.

2) *Pflügers Archiv* 10, 1875.

3) *Zeitschr. physiol. Chem.* 10, 1886.

4) *Zeitschr. f. Biol.* 20, 1884 und 24, 1887.

wickelte Verhältnisse, auf die wir bei Besprechung der Darmgärung zurückkommen werden (Infektionslehre). Seine Versuche führten ihn dazu, zwei Arten von Zellulosegärung anzunehmen: die Sumpfgas- und die Wasserstoffgärung. Die erstere, die er bei der nachträglichen Gärung von unfiltriertem Pansen- oder Dickdarminhalt des Rindes vor sich gesehen hatte, konnte er künstlich nachahmen, wenn er neutralisierte einprozentige Fleischextraktlösung mit Zellulose (Papier, Watte) unter Sauerstoffabschluß zusammen untersuchte und mit Panseninhalt impfte. Die daraus bei 37° entwickelten Gase waren in den ersten Tagen spärlich und bestanden aus wechselnden Mengen von Kohlensäure, Wasserstoff und Sumpfgas. Kontrollversuche mit Fleischextraktlösungen ohne Zellulose zeigten, daß es sich hier um eine reine Gärung des Extraktes handelte (a. a. O. 24. 109). Erst vom 5. oder 6. Tage an zeigte sich in den Kulturen mit Zellulose eine reichlichere Entwicklung von Gasen, die wesentlich aus Kohlensäure und Sumpfgas (33—50%) bestanden und höchstens Spuren von Wasserstoff enthielten. In den einzelnen Versuchen schwankte das Verhältnis zwischen Sumpfgas und vergorener Zellulose zwischen 4,7 und 6,2%. Etwa 60% der Zersetzungsprodukte der Zellulose kommen auf flüchtige Säuren und zwar in erster Linie auf Essigsäure, dann auf kleine Mengen von Buttersäure (Normal- und Isobuttersäure?). Daneben wurden Spuren von einem Aldehyd und Alkohol beobachtet, deren Herkunft aber zweifelhaft war. Die Kontrollflasche mit Fleischextrakt ohne Zellulose blieb einige weitere Wochen ohne Gärung, entwickelte dann aber auch noch Gase, die ebenfalls aus Kohlensäure und Methan bestanden. An dem Vorkommen einer Sumpfgasgärung aus stickstoffhaltigem Material ist danach nicht zu zweifeln (§ 192). Mit anderen Nährlösungen als mit Fleischextrakt gelang es Tappeiner nicht, aus Zellulose Sumpfgas zu erhalten, wohl aber Wasserstoff in entsprechender Menge neben Kohlensäure und denselben flüchtigen Fettsäuren. Merkwürdigerweise trat die „Wasserstoffgärung“ auf, wenn Zellulose zu Pansen- oder Dickdarminhalt, die durch Papier filtriert waren, gesetzt wurde. Auch in Zellulose-Fleischextraktlösungen zeigte sich manchmal die abweichende Zersetzung, und zwar regelmäßig dann, wenn die Reaktion alkalisch gemacht, oder der Fleischextrakt teilweise durch künstliche Salzlösungen ersetzt war. Auch Asparagin-, Azetamid- oder Ammoniumazetatlösungen eigneten sich zur Hervorrufung der Wasserstoffgärung aus Zellulose, nur darf das Asparagin nicht zu stark konzentriert (z. B. zu 2—3½%) angewendet werden, weil es dann selbst vergoren wird (§ 169) und die Zellulose vor der Zersetzung schützt. Immerhin macht sich auch in diesem Falle nach Tappeiners Beobachtung ein Einfluß des Zellulosezusatzes be-

merkbar, der noch der Erklärung harrt, er beschleunigt nämlich die Gärung.

Auch in dem Dünger findet eine Vergärung der Zellulose statt. Alle Forscher, D é h é r a i n ¹⁾, G a y o n ²⁾, S c h l ö s i n g ³⁾ u. a. sahen dabei nur Kohlensäure und Sumpfgas entstehen, der letztgenannte annähernd in gleichen Mengen, wie sie der Gleichung 1 entsprechen.

Die Mikroorganismen der Zellulosegärung sind zuerst von v a n T i e g h e m ⁴⁾ unter dem T r é c u l s c h e n Namen des „Amylobacter“ beschrieben worden. H o p p e - S e y l e r identifiziert die von ihm gefundenen Bakterien mit ihm, ohne weitere Studien darüber zu machen. V a n S e n u s ⁵⁾ kam zu einem anderen Schluß: das Amylobacter soll rein gezüchtet nicht imstande sein, die Zellulose anzugreifen, wohl im Verein mit einer anderen viel kleineren Bakterienform, die ihrerseits ebenfalls allein für sich die Zellulose nicht vergärt. Der chemische Prozeß der Zellulosegärung wird von diesem Autor anders aufgefaßt als von den übrigen. Zunächst würde das Kohlenhydrat durch ein Enzym, dessen Isolierung aus faulenden Rüben ihm einmal gelang (vgl. S. 230), verzuckert, doch immer nur in so geringer Menge, daß zuckerartige Stoffe in den Gärmischungen nicht nachweisbar wären. Die verflüssigte Substanz soll sofort zu Wasserstoff, Kohlensäure und Essigsäure, vielleicht auch zu Isobuttersäure vergoren werden und das Sumpfgas erst nachträglich durch Einwirkung des Wasserstoffs auf die Essigsäure entstehen, wobei letztere vollständig verbraucht würde (§ 141). Nur wo, wie im Darmkanal, andere reduzierbare Stoffe daneben noch zur Verfügung ständen, bliebe ein Teil der Essigsäure unzersetzt. So erklärten sich die verschiedenen Angaben der Autoren.

Man kann aus dieser Übersicht der Literatur schon den Schluß ziehen, daß der Prozeß der Zellulosevergärung nicht einheitlich verläuft, daß also wohl verschiedene Mikroorganismen dabei ins Spiel kommen. Das haben denn auch die neueren Arbeiten O m e l i a n s k y s ⁶⁾ bestätigt. Er unterscheidet wie T a p p e i n e r die S u m p f g a s - (Methan-) und die W a s s e r s t o f f g ä r u n g, deren Erreger

1) Compt. rend. acad. sc. 98. 377 und 99. 45, 1884.

2) Ebenda 98. 528.

3) Ebenda 109. 835.

4) Ebenda 88. 205 und 89. 5.

5) Bejdrag tot de kennis de cellulosegisting (Proefschrift) Leiden 1890, ref. K o c h s Jahresber. 1890. 136.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8, 1902 und 11 und 12, 1904; vgl. auch Compt. rend. 121. 653, 1895.

schlanke Bazillen mit runden Köpfchensporen¹⁾ sind, verschieden von dem *Amylobacter van Tieghems*, untereinander sich aber nahestehend. Die Reinkultur auf festen Nährböden ist zwar bisher noch nicht mit Sicherheit gelungen, doch lassen sich die Bakterien auch in flüssigen Nährlösungen von fremden Beimengungen und voneinander so weit trennen, daß über die Richtigkeit der Ergebnisse *Omelianskys* kaum ein Zweifel möglich ist.

Als Nährlösung diene gewöhnlich die folgende:

Kal. phosphor.	1
Magn. sulfur.	0,5
Ammon. sulf. oder phosph.	1
Natr. chlor.	in Spuren
Aqu. dest.	1000

Hin und wieder wurden ohne Änderung des Resultates statt des Ammonsalzes 0,5% Asparagin oder 0,1% Pepton benutzt und statt der Minerallösung ein 0,5 prozentiger Fleischextrakt oder eine Mistabkochung. In die Lösung wurde Filtrierpapier oder ein anderes Zellulosepräparat und Kreide gebracht, die Impfung mit Pferdemist oder Flußschlamm vollzogen und dann für anaërobe Versuchsbedingungen gesorgt. Nach einer Inkubation von 1 bis 4 Wochen beginnt bei 35° die Sumpfgärung mit Entwicklung von Methan und Kohlensäure in sehr wechselnden Verhältnissen mit Überschuß des einen oder anderen Gases. Neben den Gasen wurden größere Mengen von Essig- und Butter-säure, und zwar die erstere in bedeutendem Überschuß, gebildet.

In einem Monate lang durchgeführten Versuche ergab sich ein Verlust von 2,0065 g Zellulose, die sich auf

0,1372 g Methan,
0,8678 g Kohlensäure,
1,0223 g flüchtige Fettsäure
<hr/> 2,0273 g

verteilte.

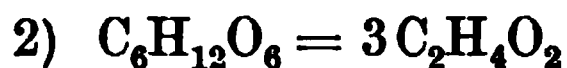
Diese Gärung konnte beliebig oft durch Überimpfung auf neue Nährlösung wiederholt werden, ohne ihren Charakter zu ändern. Dagegen trat gewöhnlich ein Wechslein, wenn das Impfmateriäl vorher 15 Minuten bei 75° erhitzt worden war: es entwickelte sich dann die Wasserstoffgärung mit wechselnden Mengen von Kohlensäure und Wasserstoff. In den ersten Tagen überwog der Wasserstoff, später die Kohlensäure. Daneben

1) Auch *Tappeiner* scheint diese gesehen zu haben.

wurden, wie bei der Sumpfgasgärung, große Mengen von Essigsäure und Buttersäure erzeugt, und zwar überwog bald die erstere, bald die letztere. In einem Versuch, in dem 3,3471 g Zellulose verschwunden waren, fanden sich davon wieder

$$\begin{array}{r} 0,9722 \text{ g Kohlensäure,} \\ 0,0138 \text{ g Wasserstoff,} \\ 2,2402 \text{ g Fettsäure} \\ \hline 3,2262 \text{ g} \end{array}$$

Spuren von höheren Alkoholen konnten außerdem nachgewiesen werden. Diese Zahlen O m e l i a n s k y s ermöglichen es noch nicht, die Zellulosevergärung in Gleichungen zu fassen, vielleicht handelt es sich aber bei der Methangärung um drei Prozesse, die nebeneinander hergehen, den Zerfall des Kohlenhydrates in Methan und Kohlensäure nach Formel 1, die uns schon bekannte Essigsäuregärung

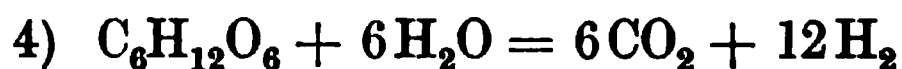


und die gleichfalls bekannte Buttersäuregärung



Der Überschuß der Kohlensäure würde aus letzterer Zersetzung hervorgehen.

Bei der Wasserstoffgärung der Zellulose würden die Essigsäure- und Buttersäuregärung, Formel 2 und 3, sich vielleicht verbinden mit dem Prozeß, den wir schon früher als Wasserstoffgärung des Zuckers bezeichnet haben (§ 98 u. 105) und der nach der Gleichung

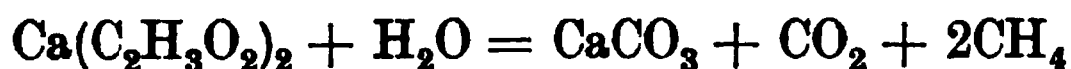


verläuft.

Ein Zellulose lösendes Enzym konnte auch O m e l i a n s k y bei seinen Mikroorganismen nicht nachweisen. Diese scheinen sich, nach dem Ausfall der mikroskopischen Untersuchung zu urteilen, förmlich in die Zellulose hineinzufressen, bedürfen also wohl, wie v a n S e n u s schon vermutet, nur kleinster Spuren von hydrolytischen Enzymen und vergären die gelöste Zellulose sofort.

Bei weitem das kräftigere Gärvermögen besitzt der Sumpfgasbazillus, daher erklärt es sich wohl auch, daß er im allgemeinen den Wasserstoffbazillus überwuchert. In Kulturen, die mit gleichen Teilen des einen und des anderen Mikroben geimpft worden sind, entwickelt sich nur die Sumpfgasgärung. Nur die Erhitzung verträgt der Erreger der letzteren schlechter als der Wasserstoffbazillus, dem dadurch freie Bahn geschaffen wird. Auch unter natürlichen Verhältnissen wird die Sumpfgasgärung der häufigere Vorgang sein, was ja mit den Angaben

in der Literatur übereinstimmt. Wie sich der Befund H o p p e - S e y l e r s erklärt (s. o.), ist noch nicht ausgemacht. Vielleicht hat er deshalb keine Fettsäure nachweisen können, weil diese in seinen Mischkulturen mitvergoren wurde. Eine Sumpfgasgärung des essigsauren Kalziums kommt wenigstens vor (§ 141). Da hierbei mehr Sumpfgas als Kohlensäure erzeugt wird:



und bei der Sumpfgasgärung der Zellulose nach O m e l i a n s k y umgekehrt mehr Kohlensäure als Sumpfgas entsteht, so würde es verständlich werden, daß bei einer Vereinigung beider Prozesse die Gase zu gleichen Teilen auftreten, wie es H o p p e - S e y l e r gefunden hat. Es würde freilich dazu ein besonderer Mikrobe gehören, der das essigsaure Salz zersetzt, denn der Sumpfgasbazillus O m e l i a n s k y s ist dazu nicht imstande.

Obgleich der russische Forscher die weite Verbreitung seiner beiden Mikroorganismen hat nachweisen können, ist damit noch nicht gesagt, daß es daneben nicht noch andere Zellulose vergärende Spaltpilze geben könnte. M a z é¹⁾ will neuerdings in der Tat eine andere Art von Sumpfgasgärung entdeckt haben. Er fand, daß sich aus trockenen Blättern, die er mit einer Salzlösung übergossen hatte, große Mengen des Gases neben Butter- und Essigsäure entwickelten. Die aus diesem Bakteriengemisch rein gezüchteten Arten vermochten allerdings sämtlich nicht, Sumpfgas zu bilden. Wenn jedoch zwei dieser Bakterien mit einem dritten, einer großen „Pseudosarzine“, zusammengeimpft wurden, trat die Gärung ein; sie blieb aus, wenn der letztere Mikrobe auf Filtraten der Begleitbakterien gezüchtet wurde. Es würde sich danach um eine Symbiose handeln, ähnlich der von N e n c k i beschriebenen zwischen dem Rauschbrandbazillus und dem *Micrococcus acidi paralactici* (S. 170).

Eine andere Zersetzung der Zellulose (und übrigen unlöslichen oder schwer löslichen Kohlenhydrate), die wohl als O x y d a t i o n s - p r o z e ß aufzufassen ist, werden wir bei der Stickstoffgärung besprechen (s. u. § 198). V a n I t e r s o n²⁾ sah nämlich eine Auflösung von Zellulose in anaërob gehaltenen Nährlösungen, die Nitrate enthielten. Auch bei unbeschränktem Luftgehalt sollen gewisse Bakterien (*Bac. ferrogineus* und ein gelber Mikrokokkus) die Zellulose kräftig angreifen. Die Auflösung der Zellulose durch Schimmelpilze wurde schon früher besprochen (§ 76).

1) Compt. rend. 137. 887.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 689, 1904.

Außer der Zellulose gibt es noch andere Kohlenhydrate, die den Angriffen der Mikroorganismen zähen Widerstand entgegenzusetzen pflegen. Dahin gehören die *Gummiarten*, und zwar sowohl diejenigen, die durch Hydrolyse in Hexosen zerfallen, die Hexosane als die Pentosane. *Popoff* hat aber schon *Gummi arabicum*, das zu der ersteren Gruppe gehört, durch denselben Schlamm, mit dem er die Zellulosevergärung erhielt, in lebhafte Gärung versetzt; es entwickelte sich in 2 Versuchen:

I. 76,2%	II. 91,1% Kohlensäure
6,0%	6,5% Sumpfgas
17,8%	2,4% Wasserstoff.

Es handelte sich also um eine gemischte Sumpfgas-Wasserstoffgärung, wie sie übrigens *Popoff* (s. o.) auch aus der Zellulose erhielt. *Hoppe-Seyler*¹⁾ sah ebenfalls bei einem Pentosan, dem *Holzgummi*, eine ähnliche Sumpfgasgärung eintreten, wie bei der Zellulose, und *Omeliansky*²⁾ beobachtete auch beim *Gummi arabicum* eine reine Sumpfgasgärung. Auch das Xylan, ein verwandter Körper, verfällt nach *Hébert*³⁾ gemeinschaftlich mit echter Zellulose und „Vasculose“, einem Umwandlungsprodukt des Holzstoffs, einer Zersetzung, deren Produkte allerdings nicht näher studiert worden sind, die aber wohl der Sumpfgasgärung entspricht. Von diesen Bestandteilen des Stroh fanden sich, nachdem sie in einer 5 prozentigen Lösung von kohlensaurem Kalium und Ammonium aufgeschwemmt und mit Jauche geimpft einer dreimonatlichen Gärung bei 55° unterworfen worden waren, bei der Analyse wieder:

von 14,12 g Zellulose	6,18 g
„ 14,1 g Vasculose	11,75 g
„ 10,00 g Xylan	4,67 g.

Man sieht daraus gleichzeitig, daß die Sumpfgasgärung auch bei höheren Temperaturen möglich ist, eine Beobachtung, die mit der lange bekannten Tatsache übereinstimmt, daß die Temperatur in gärenden Düngerhaufen sehr hoch ansteigen kann. Nach den beiden *Schlösing*⁴⁾ würden 60° C ungefähr die Grenze für die Entwicklung der Sumpfgasgärung bezeichnen.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 13.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 678.

3) Compt. rend. acad. sc. 110. 969 und 115. 1321.

4) Annal. agronom. 18, 1893; nach *Duciaux* 4. 465.

Leichter angreifbar für die Mikroorganismen als die Zellulose und die Gummiarten sind die P e k t i n s t o f f e ¹⁾, deren hydrolytische Spaltung und weitere Vergärung wir schon früher besprochen haben (§ 75). Wahrscheinlich spielen die hier besprochenen Zersetzungen eine gewisse Rolle auch bei dem F a u l k a m m e r v e r f a h r e n zur Reinigung der Abwässer, denn es scheint nach den Erfahrungen D u n b a r s ²⁾, daß auch die Zellulose in der Faulkammer angegriffen wird.

§ 118. Entstehung des Humus, der Kohle, des Grubengases. Über die Entwicklungsweise der Humusstoffe, des Torfes, der Braun- und Steinkohle ist noch wenig Sicheres bekannt. Es fragt sich, ob man es auch hier mit Wirkungen von Mikroorganismen zu tun hat. Der Umstand, daß die genannten Stoffe wesentlich pflanzlichen Ursprungs sind, und die lange bekannte Tatsache, daß man aus Zucker und anderen Kohlenhydraten durch Behandlung mit Alkalien oder Säuren humusähnliche Stoffe erhalten kann, läßt die Annahme möglich erscheinen, daß die H u m u s s t o f f e auch unter natürlichen Bedingungen im Erdboden aus denselben Quellen hervorgehen. Das Vorhandensein von Pilzen und Bakterien in ihnen ist ebenfalls gesichert. So hat man denn schon seit N ä g e l i F a d e n p i l z e ³⁾ für die Bildung namentlich des sauren Humus, des Moorbodens, verantwortlich gemacht. B a k t e r i e n treten in letzterem sehr zurück, finden sich aber um so reichlicher in mildem Humus⁴⁾. Nach B e i j e r i n c k ⁵⁾ u. a. spielen S t r a h l e n p i l z e eine wichtige Rolle bei der Humifizierung des Garten- und Waldbodens. Besonders ist die *Streptothrix* (*Actinomyces*) *chromogena*⁶⁾ nicht nur allenthalben verbreitet, sondern zeichnet sich auch durch ihren Erdgeruch und die Braunfärbung in (tyrosinhaltigem) Nährboden aus.

Aber auch die f o s s i l e n H ö l z e r enthalten Mikroorganismen. So hat schon v a n T i e g h e m ⁷⁾ in verschiedenen Pflanzenteilen den Erreger der Sumpfgasgärung, seinen *Bac. amylobacter* (S. 376) wieder-

1) Über die Verschiedenheit der histologischen Bilder und der Analyseergebnisse bei der Pektin- und Cellulosevergärung des Leins s. O m e l i a n s k y, Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 1.

2) Leitfaden für die Abwässerreinigungsfrage, 1907, S. 133.

3) P. E. M ü l l e r, Die natürlichen Humusformen. 1887; K o n i n g, Kochs Jahresber. 1904. 97.

4) R a m a n n, R e m e l é, S c h e l l h o r n und K r a u s e, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 296; F a b r i c i u s und v o n F e i l i t z e n, ebenda 14. 161, 1905.

5) Ebenda 6. 2, 1900.

6) Wohl identisch mit der *Cladothrix odorifera* R u l l m a n n s ebenda 2 und 5.

7) Compt. rend. 89. 1102, 1879.

finden und R e n a u l t ¹⁾ später in T o r f - , B r a u n - und S t e i n - k o h l e sowohl große Bazillen als Kokken in hellen Haufen feststellen wollen. Selbst wenn man alle diese Befunde anerkennen dürfte, wäre dadurch natürlich noch nicht der ursächliche Zusammenhang zwischen den Mikrobien und der Humifizierung und Verkohlung bewiesen. Wir brauchten dazu erst Experimente. Und gerade hieran fehlt es bisher. Obwohl man die unter dem Einfluß von Bakterien und Pilzen stattfindenden anaëroben und aëroben Zersetzungen der Zellulose und des Holzes nach allen Richtungen studiert hat, auch die Versuche jahrelang fortgesetzt hat, hat man mit Ausnahme der später zu erwähnenden kümmerlichen Ergebnisse v a n I t e r s o n s ²⁾ keine Erfolge gehabt. Man wird sich dadurch aber nicht abschrecken lassen dürfen und namentlich die Bedingungen ins Auge fassen müssen, unter denen eine Verkohlung, z. B. von Grubenhölzern, im Laufe weniger Jahre erfolgen soll³⁾. Inzwischen lohnt es sich, den Vorgang der Humifizierung rein vom chemischen Standpunkte aus zu betrachten⁴⁾. Wir geben zu dem Zweck einige, zum Teil nur angenäherte empirische Formeln, die die Zusammensetzung der hier in Betracht kommenden Stoffe pflanzlicher Herkunft im Verhältnis zu einander veranschaulichen sollen.

Steinkohle (R e n a u l t): $C_{18}H_{12}O_2$ (oder C_7H_6O)

Huminsäure (M u l d e r): $C_{18}H_{12}O_6$ (genauer: $C_{40}H_{24}O_{12}$)

Gerbstoffrot (H o p p e - S e y l e r): $C_{18}H_{16}O_8$ (genauer: $C_{26}H_{22}O_{11}$)

Zellulose: $C_{18}H_{30}O_{18}$

Hydrochinon: $C_{18}H_{18}O_6$

Suberinsäure (G i l s o n): $C_{18}H_{22}O_8$ (genauer $C_{17}H_{30}O_8$)

Ölsäure: $C_{18}H_{34}O_2$.

Hieraus ist erstens zu ersehen, daß die aromatische Substanz (Hydrochinon) und der Gerbstoff in ihrer Zusammensetzung dem Humus am nächsten, zum Teil sehr nahe kommen, und allenfalls durch Oxydation oder Austritt weniger Wassermoleküle zu ihm führen könnten. Bei der Zellulose wäre ein sehr reichlicher Austritt von Wasser nötig, bei dem Fett und der ihm nahestehenden Kutikular- und Korksubstanz (Suberinsäure) eine sehr starke Oxydation. Umgekehrt ist der Übergang von dem Humus zur Kohle nur möglich durch starke Reduktion.

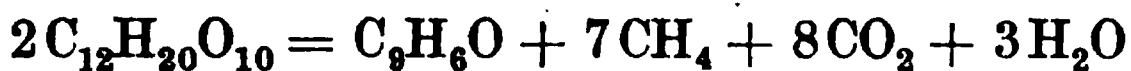
1) Annal. scienc. naturell. (botan.) 8. sér. 2. 275, 1896 und zahlreiche andere Arbeiten. Abbildungen bei Z e i l l e r , Eléments de paléobotanique 1900. 39. Vgl. auch D u c l a u x , Mikrobiol. 4. 489.

2) Vgl. § 123 am Schluß.

3) S. bei S o l m s - L a u b a c h , Einf. in die Paläophytologie 1887, S. 18.

4) Vgl. D u c l a u x , Mikrobiol. 4. 486 und 707.

In der Tat gibt R e n a u l t für die Entstehung der Kohle aus der Zellulose folgende Formel:



und durch eine ähnliche Formel kämen wir von der Humussäure zur Kohle:



O m e l i a n s k y¹⁾ stellt dagegen folgende einfache Gleichung auf, die sofort den Übergang zu reiner Kohle bewerkstelligen würde:



Alles das wären anaërobe (Sumpfgas-)Gärungen, für die wir aber in der Erfahrung keinen Anhalt haben. Allerdings haben wir allen Grund, anzunehmen, daß die Bildung der Kohle wie die des Torfs im Wasser vor sich geht, und daß unter Wasser die Zellulose zu Sumpfgas und Kohlensäure vergärt, haben wir eben (§ 117) gesehen. Der „Grubengas“-Gehalt der Kohlengruben spricht außerdem dafür, daß vielleicht etwas derartiges bei der Kohlenbildung vorkommt. Da uns aber vorläufig nichts zu der Voraussetzung berechtigt, die Sumpfgasgärungen seien früher anders verlaufen als jetzt, d. h. wo sie unter völligem Aufgehen der Zellulose in Gas, oder wenigstens ohne Zurückbleiben von Kohle vor sich gehen, könnten wir mit D u c l a u x zu dem Schlusse kommen, daß die Zellulose zur Zeit der Kohlenformation zwar auch der Sumpfgasgärung verfallen, aber gar nicht die Quelle der Kohle selbst wäre, sondern daß andere sie begleitende Pflanzenstoffe dafür in Anspruch genommen werden müßten. Als solche bieten sich dar in erster Linie die Fett-, Kork- und Kutikularsubstanzen. Wie die obigen Formeln zeigen, würde die Kohle durch Wasserstoffentziehung, also durch Oxydation aus diesen Stoffen hervorgehen können. Wirklich hat D u c l a u x bituminöse Stoffe aus Käse darstellen können, die er auf Umwandlung der Fette durch langsame Oxydation zurückführt. Grundsätzlich wird man zwar damit einverstanden sein können, daß Oxydation und Reduktion neben oder nacheinander bei der Humifizierung und Verkohlung mitwirken. Der Ursprung der bituminösen Stoffe aus dem Fett bedürfte nur noch einer gründlichen experimentellen Prüfung.

Daneben bietet sich nach D u c l a u x aber noch eine zweite Möglichkeit der Erklärung in den Veränderungen der aromatischen Bestandteile der Pflanzen, zu denen ja auch die weit verbreiteten Gerbstoffe gehören. Auch diese können nachweislich durch Oxydation in

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15.

schwärzliche Produkte („Melanine“) verwandelt werden (Kap. VIII). Bekanntlich ist auch der aromatische Kern in der Kohle reichlich vertreten. Man kann dem zwar insofern zustimmen, als voraussichtlich auch die aromatischen Stoffe von Bedeutung für die Kohlenbildung sind, sieht aber nicht ein, was die sehr sauerstoffreichen Melanine mit der sauerstoffarmen Kohle außer der Farbe zu tun haben sollten. Auch hier tappt man also noch völlig im Dunklen.

Für die Entstehung des Sumpfgases, das sich in der Kohle so häufig als Grubengas, und zwar als einziges brennbares Gas¹⁾ eingeschlossen findet, hätte man allenfalls eine genügende Erklärung in den oben erwähnten biologischen Vorgängen. Das ebenfalls reichliche Vorkommen in manchen heißen Q u e l l e n und namentlich in n a p h - t h a haltigen²⁾ Erdschichten ist aber wohl besser auf rein chemischem Wege, z. B. durch die Wechselwirkung von Karbonaten, Schwefelwasserstoff und schwefliger Säure, zu erklären (R o c h e ³⁾).



Schwefel ist ja ebenfalls ein gewöhnliches Produkt vulkanischer Tätigkeit. Auch Wasser könnte mit Kohlenstoffverbindungen des Eisens und Aluminiums zusammen Kohlenwasserstoffe erzeugen (M e n d e l e - j e w , A r m . G a u t i e r).

In der Luft ist, wie schon V o l t a gefunden, ebenfalls Sumpfgas enthalten. Nach A r m a n d G a u t i e r ⁴⁾ ist dabei die Verteilung eine ganz eigentümliche, indem

Stadtluft	in je 100 Litern	22	ccm,
Waldluft	„ „ 100	„ 11,3	„
Gebirgsluft	„ „ 100	„ 2,19	„
Seeluft	„ „ 100	„ 0,10	„

enthält. Das spricht für die Entstehung des Gases aus der Zersetzung organischer Stoffe. Solche Vorgänge haben wir in der Vergärung der Zellulose, der Gummiarten schon kennen gelernt, und ähnlichen werden wir weiter bei der Vergärung der Essig-, Milch- und Buttersäure sowie der Eiweißstoffe begegnen.

§ 119. Oxydation der Kohlehydrate. Nachdem wir in den vorhergehenden Abschnitten die Spaltungen der Kohlehydrate, die

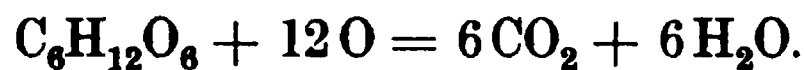
1) S c h l ö s i n g , Compt. rend. 122. 398, 1896, vgl. auch Zeitschr. phys. Chem. 10. 203.

2) Das gilt wohl auch für die Entstehung des Naphthas und Erdöls selbst, vgl. § 151.

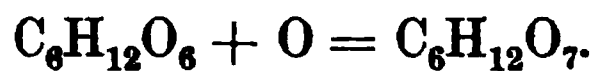
3) Vgl. O m e l i a n s k y , a. a. O.

4) Compt. rend. 130 und 131, 1900.

ohne Beteiligung des freien Sauerstoffs der Luft verlaufen, besprochen haben, wenden wir uns jetzt den Oxydationen zu. Je nach der Zahl der Sauerstoffatome, die in das Molekül des Kohlehydrats eintreten, ändern sich die Verbrennungsprodukte. Die vollständige Oxydation des Zuckermoleküls zu Kohlensäure und Wasser verlangt 12 Atome Sauerstoff nach der Gleichung



Verbindet sich nur ein Atom Sauerstoff mit dem Zucker, so entsteht Glykonsäure:



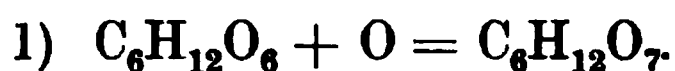
Dazwischen liegen die Oxalsäure (mit 9 Atomen Sauerstoff), Glyzerose (6), Essigsäure (4), Zitronensäure (3), Zuckersäure (3), Glykuronsäure (2) als Erzeugnisse mehr oder weniger weitgehender Verbrennung der Kohlenhydrate. Die Art, wie alle diese Körper sich bilden, ist noch keineswegs aufgeklärt. Zunächst wissen wir häufig schon nicht, ob die Polysaccharide und Disaccharide vor ihrer Oxydation hydrolytisch zu Monosacchariden gespalten werden. Nur in einzelnen Fällen ist das nachgewiesen. Dann wissen wir nicht, warum in dem einen Falle dieses, in dem anderen jenes Oxydationsprodukt, in dem einen hochoxydierte, in dem anderen schwachoxydierte Körper entstehen. Die Annahme, daß spezifische Sekretionsprodukte der Mikroorganismen, oder besser gesagt, bestimmte Bestandteile (Seitenketten) ihres Protoplasmas das besorgen, die Oxydationsenzyme oder „Oxydasen“, liegt nach der Entwicklung unserer Kenntnisse in den letzten Jahren nahe, der Beweis dafür fehlt aber bisher noch fast überall. Sicher ist daneben das Maß des Sauerstoffzutritts von einer gewissen Bedeutung für den Verlauf der Oxydation. Wir werden einige Beispiele kennen lernen, wo bei Sauerstoffmangel niedrig oxydierte Produkte entstehen, die dann bei reichlichem Zutritt von Sauerstoff weiter verbrannt werden. Man könnte daraus den Schluß ziehen, daß die Verbrennung in j e d e m Falle schrittweise von der niederen zu der höheren Oxydationsstufe erfolge, doch fehlen gewöhnlich die Übergangsprodukte.

Nirgends zeigt sich der Mangel an Folgerichtigkeit mehr als in der Bezeichnungsweise der hier zu erörternden Prozesse. Allgemein spricht man von Oxydationsgärungen, wenn das Produkt der Verbrennung die Zitronen- oder die Oxalsäure ist, die vollständige Verbrennung hat dagegen niemand bisher „Kohlensäuregärung“ genannt und doch wäre diese Benennung durchaus berechtigt. In dem einen wie dem anderen Falle handelt es sich nicht um einfache chemische Prozesse, die „von selbst“ verlaufen, es bedarf dazu eines Anstoßes, eines organischen Katalysators, d. h. Ferments oder Enzyms. Gleichgültig für den Prozeß

selbst ist es, ob man sich dieses Enzym als von der Zelle trennbar vorstellt oder als „Seitenkette“ des Protoplasmas, die mit dem Tode des letzteren oder nach ihrer Abtrennung ihre katalytische Wirksamkeit verliert.

Das wenige, was bisher bekannt ist über oxydierende Fermente der Kohlehydrate, bringen wir später (§ 222 u. 226).

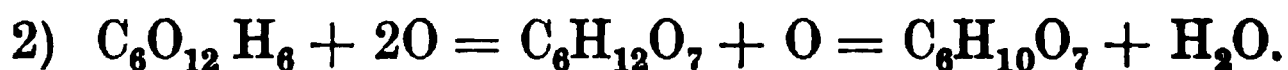
§ 120. Glykonsäure-, Glykuronsäure-, Zuckersäuregärung. Die beiden ersten Gärungen sind von B o u t r o u x ¹⁾ entdeckt worden. Der Micrococcus (besser Bac.) oblongus, der in saurem Bier gefunden wurde und offenbar in allen Eigenschaften den E s s i g b a k t e r i e n nächstverwandt ist, wächst auf Glykose und Invertzucker, aber auch auf Saccharoselösungen, nicht auf solchen von Milchzucker, in Gestalt eines Bakterienschleims und bildet dabei neben wenig Kohlensäure ausschließlich reichliche Mengen von Glykonsäure nach der Gleichung



Findet das Wachstum in Gegenwart von kohlensaurem Kalk statt, so scheidet sich der glykonsaure Kalk in Form von charakteristischen Krystallen ab. Aus Alkohol bildet der Bazillus wie andere Essigbakterien Essigsäure (§ 135).

Auch der Bac. aceti ist nach B r o w n ²⁾, der Bac. Pastorianus und Kützingianus nach S e i f e r t ³⁾, das Bact. industrium nach H e n n e b e r g ⁴⁾ zu der gleichen Umsetzung imstande. Das einzige Essig-Bakterium, das Glykose nicht oxydiert, ist nach Henneberg das Bact. ascendens.

Wie der Bac. oblongus verhält sich ein ähnlicher Mikrobe, den wir Bac. glycuronicus nennen wollen, aber nur in Zuckerlösungen ohne Kreidezusatz. Wird die Säure durch diesen Zusatz neutralisiert, so oxydiert sie sich weiter zu einem Körper, der wie die Glykuronsäure zusammengesetzt ist, aber das polarisierte Licht nicht nach rechts, sondern nach links dreht. Die Reaktion verläuft wohl in folgender Weise:



Nach B e i j e r i n c k ⁵⁾ sollen die Essigbakterien zur Bildung von „Zuckersäure“ aus Glykose, Maltose, Saccharose oder Laktose be-

1) Compt. rend. ac. sc. 86. 605 und 91. 236. Annal. Pasteur 1888.

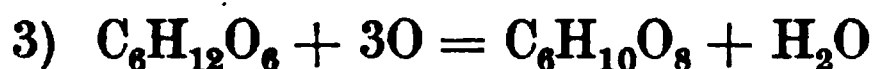
2) Journ. chem. soc. 49. 172 und 432, 1886.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 3. 337, 1897.

4) Zeitschr. f. Essigind. 1898 und Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 14.

5) Zentr. Bakt. 11. 72, 1892.

fähigt sein. Ob damit die vorgenannten Säuren gemeint sind oder eigentliche Zuckersäure, die durch Oxydation nach der Formel



entstehen würde, muß dahingestellt bleiben.

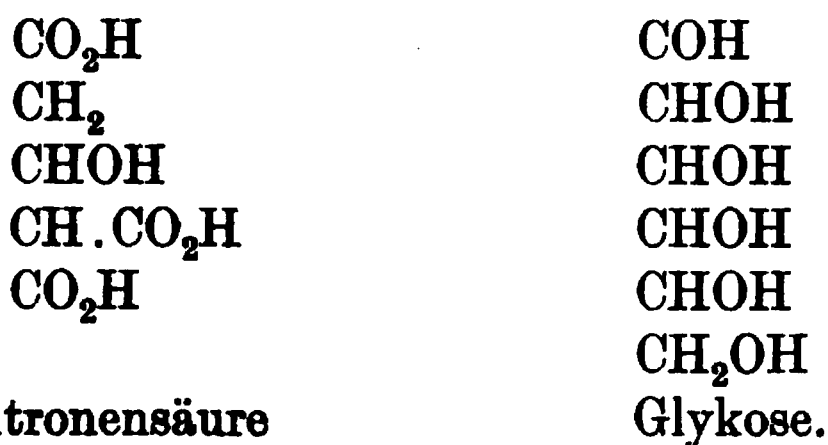
B e r t r a n d s¹⁾ „Sorbosebakterium“, das dem Bact. xylinum, einem anderen Essigbildner, nahe steht, verwandelt verschiedene Hexosen, wie Glykose und Galaktose, aber auch Pentosen, wie Xylose und Arabinose, durch Anlagerung eines Atoms Sauerstoff in Glykon-säure und die ihr entsprechenden Galaktonsäure, Xylonsäure und Arabinonsäure. Allerdings geht die Oxydation langsam vor sich. Der Sauerstoff tritt dabei immer an die Aldehydgruppe. Daraus erklärt es sich, daß nur die Aldohexosen oder -pentosen angegriffen werden, nicht die Ketohexosen Fruktose und Sorbose. Wie sich das Bakterium zu den höheren Alkoholen verhält, werden wir später sehen (§ 132).

Noch vielseitiger ist das von H e n n e b e r g beschriebene Essigbakterium Bact. industrium (s. o.), indem es außer den genannten Hexosen noch Fruktose, ferner die Disaccharide Saccharose, Maltose und Laktose und die Polysaccharide Dextrin und Stärke angreift und nur Sorbose, Inulin und Glykogen unberührt läßt. Der Verfasser hat allerdings nur festgestellt, daß bei der Oxydation des Zuckers eine Säure entsteht. Ob das die Glykon- oder Glykuronsäure oder eine andere ist, bleibt unbestimmt.

§ 121. Zitronensäuregärung. Diese merkwürdige Gärung kommt nach W e h m e r²⁾ zwei Schimmelpilzen, dem Citromyces Pfefferianus und glaber zu. Glykose eignet sich am besten, aber auch andere Zuckerarten, schlecht die Polysaccharide. Die Formel



gibt die Reaktion wieder, drückt aber nicht den Vorgang genau genug aus, denn neben der Oxydation findet auch noch eine Umstellung eines der Kohlenstoffmoleküle statt, da die Zitronensäure einen Kohlenstoff seitlich angelagert zeigt, während der Zucker nur eine einfache Kohlenstoffkette darstellt.



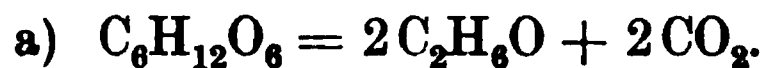
1) Compt. rend. 127, 124 und 128.

2) Zentr. Bakt. 15. 427, 1894, vgl. K o c h s Jahresber. 1893. 268.

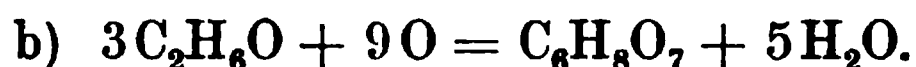
Die Zitronensäure ist übrigens nur das Endprodukt der Verbrennung, wenn die Säure durch Kalk gebunden und dadurch aus dem Stoffwechsel ausgeschaltet wird. Sonst wird sie weiter oxydiert bis zu Kohlensäure und Wasser. Das Maß des Sauerstoffzutritts, die Temperatur und die übrigen Nährstoffe haben auch einen Einfluß auf den Verlauf der Gärung. Findet das Wachstum ohne Kreide in der Nährlösung statt, so steigt die Säuremenge bis auf 4% und verschwindet dann im Laufe von 2 bis 3 Monaten vollständig. Andere Säuren wirken schon in sehr viel geringeren Konzentrationen hemmend auf die Entwicklung ein, so z. B. 1‰ Salz- und Schwefelsäure. Ähnlichen Verhältnissen werden wir bei der Essigbildung (§ 135) begegnen.

Die günstigste Temperatur liegt in der Nähe von 20°. Die Gärung ist aber nicht streng an das Wachstum gebunden: bei 30—35° hört letzteres auf, während erstere noch fortschreitet, ein Hinweis auf die enzymatische Natur des Vorgangs. Unter günstigen Bedingungen werden bis zu 55% des Zuckers in Zitronensäure verwandelt. Man hat deswegen den Versuch gemacht, die Gärung technisch zur Darstellung der Säure zu verwerten.

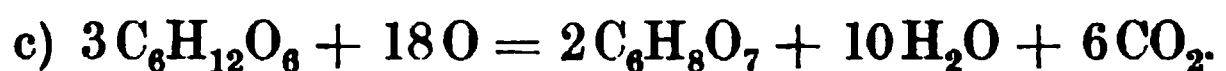
Neuerdings haben M a z é und P e r r i n ¹⁾ für die Zitronensäuregärung andere Formeln aufgestellt. Es soll der Zucker zunächst gespalten werden wie bei der alkoholischen Gärung in Alkohol und Kohlensäure:



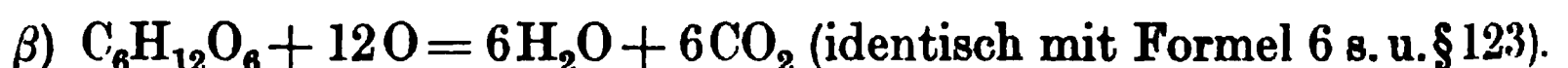
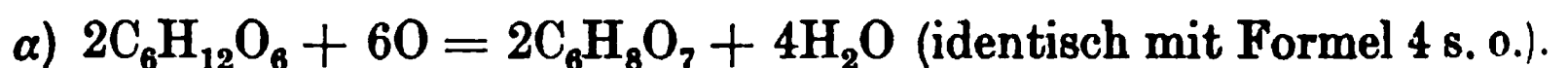
Der Alkohol soll dann unter Mitwirkung des Sauerstoffes in Zitronensäure und Wasser verwandelt werden:



Durch Kombination beider Gleichungen hätte man schließlich die Umsetzung:



Diese Formel läßt sich aber auch in folgende zerlegen:



Mit anderen Worten: die von M a z é und P e r r i n vorgeschlagene Formel würde sich auch mit der Vorstellung vertragen, daß der größere Teil des Zuckers nach der Formel 4 zu Zitronensäure oxydiert, ein anderer Teil aber vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbrannt

1) Annal. Pasteur 1904. 9.

würde. In der Tat scheint die Sache so zu liegen: *M a z é* und *P e r r i n* haben sogar gefunden, daß in der ersten Periode des Wachstums der *Citromyces* überhaupt keine Zitronensäure bildet, sondern den Zucker vollständig verbrennt; erst wenn die Stickstoffernährung eine spärliche zu werden beginnt, erscheint die Zitronensäure, und zwar in einer Menge von 50 bis 55 g auf je 100 g verschwindenden Zuckers. Dabei läßt sich durch Gasanalyse feststellen, daß in der zweiten Periode viel mehr Sauerstoff aufgenommen als Kohlensäure ausgestoßen wird. Ungefähr könnte also die Gleichung c den Tatsachen entsprechen. Man darf auch den französischen Forschern zugeben, daß die Zitronensäure ein Produkt ist, daß erst in halberschöpften Kulturen auftritt (s. u. Oxalsäuregärung § 122). Nur liegt kein genügender Grund vor, die Umsetzung auf dem Umwege über Formel a und b verlaufen zu lassen. *M a z é* ist hierzu wohl verführt worden durch die von ihm verfochtene Theorie, daß der erste Schritt bei allen Oxydationsprozessen, denen der Zucker unterliegt, der Zerfall in Alkohol und Kohlensäure sei, der durch die allgegenwärtige Zymase bewirkt werde (vgl. § 123). Um von dem Alkohol zur Zitronensäure zu gelangen, bedarf es der eigentümlichen Synthese b, die nach *M a z é* und *P e r r i n* nur vom Protoplasma bewerkstelligt werden kann. Zur Stütze dieser Auffassung geben die Autoren an, Zitronensäure werde auch gebildet, wenn man das gut entwickelte Mycel des *Citromyces* bei Sauerstoffabschluß halte. Freilich soll dieser Versuch nicht immer gelingen. Ein weiterer Beweis für ihre Theorie sei die Tatsache, daß bei anaërober Entwicklung der Kulturen wirklich etwas Alkohol nachweisbar werde. Das wird ja aber auch bei anderen Pilzen beobachtet, die keine Zitronensäuregärung hervorrufen (§ 85).

Schließlich soll Zitronensäure auch bei Darreichung von Glyzerin oder Alkohol gebildet werden, im letzteren Fall allerdings nur in geringer Menge. Man kann dafür aber wohl andere Möglichkeiten gelten lassen: die Pilze bauen aus dem Glyzerin leicht Zucker auf und haben auch in ihrem Körper Kohlehydrate genug zur Verfügung, um daraus den für die geringfügige Zitronensäurebildung nötigen Zucker abzuspalten. Alles in allem genommen sind die Darlegungen von *M a z é* und *P e r r i n* durchaus nicht geeignet, die einfache Auffassung des Oxydationsvorganges zu widerlegen. Fraglich bleibt es natürlich, ob es sich um die Wirkung einer isolierbaren „Oxydase“ handelt.

§ 122. **Oxalsäuregärung.** Diese Gärung schließt sich eng an die vorige an. Oxalsäure als Produkt von Mikroorganismen, namentlich von echten Pilzen, ist schon lange bekannt: sie erscheint, gewöhnlich an Kalzium gebunden, in Form der charakteristischen Krystalle.

Z o p f ¹⁾ sah sie in reichlicher Weise entstehen in Zuckerkulturen einer Hefe, des *Saccharomyces Hansenii*, ferner bei zahlreichen Essigbakterien²⁾. B a n n i n g ³⁾ vervollständigte die Liste dieser Bakterien. Alle sind strenge Aërobier. Nach ihm ist am besten zum Nachweis der Oxalsäure geeignet ein fester Nährboden, der 2% Glykose, 1% Fleischextrakt mit 1% Pepton und 7% Gelatine enthält. Außer der Glykose wird von den meisten dieser Bakterien auch die Arabinose vergoren, die übrigen Zuckerarten ungleichmäßig, in keinem Falle Stärke, Inulin, Glykogen und Gummi arabicum. Die höheren Alkohole, Essig- und Milchsäure, verhalten sich verschieden gegenüber den einzelnen Arten. Doch gelten diese Unterschiede nur für die Bakterien, denn den Schimmelpilzen können fast alle Kohlenstoffverbindungen als Material zur Oxalsäurebildung dienen. Nicht unwichtig scheint die Oxalsäurebildung zu sein für einige Erreger von Pflanzenkrankheiten, so die *Pseudomonas destructans* P o t t e r s ⁴⁾, da die Säure auf die Zellen der Wirtspflanzen als Gift wirkt (vgl. § 51 u. 258). Die Gärung ist eine Oxydation von der Form:



Ihre Bedingungen sind besonders bei Schimmelpilzen näher studiert worden. Nach D u c l a u x ⁵⁾ ist die Oxalsäure beim *Aspergillus niger* ein Zwischenerzeugnis der Oxydation, das sich dann besonders anhäuft, wenn die Ernährungsbedingungen ungünstig, die Lüftung ungenügend ist. Unter günstigeren Umständen wird es vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbraucht, wie der übrige Teil des Zuckers, der durch diesen Zwischenzustand gar nicht hindurchgeht, sondern unmittelbar der Verbrennung verfällt. Nur wenn die Oxalsäure bei Vorhandensein von kohlensaurem Kalk zum Nährboden sofort nach ihrem Entstehen ausgefällt wird, bleibt sie unberührt. W e h m e r ⁶⁾, der eine größere Reihe von Schimmelpilzen untersucht hat, kommt nicht zu so klaren Schlüssen. Einige wichtige Ergebnisse lassen sich aber doch aus der W e h m e r s c h e n Arbeit herauschälen: zunächst das verschiedene Verhalten der einzelnen Pilze: während z. B. *Aspergillus niger* bei Kalkzusatz in Traubenzuckerlösungen sehr große Mengen von Oxalsäure anhäufte, war davon bei *Penicillium glaucum* keine Rede. Beim Vergleich der verschiedenen Stickstoffquellen erwies

1) Ber. botan. Ges. 1889. 94.

2) Ebenda 1900. 300.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 13—19.

4) Ebenda 7, 354.

5) Mikrobiologie 4. 291, 1901.

6) Bot. Zeitg. 1891; vgl. D u c l a u x a. a. O.

sich Salmiak und Ammonsulfat als ungeeignet zur Ansammlung von Oxalsäure, die übrigen Ammonsalze, Nitrate und Peptone als gleich geeignet. Von den Kohlenstoffverbindungen ergaben Pepton oder weinsaures oder zitronensaures Salz mehr Oxalsäure als Dextrose oder Glyzerin, freie organische Säuren überhaupt keine Oxalsäure. Noch größer werden die Unterschiede, wenn man gleichzeitig die Pilzernte berücksichtigt: Aus 1,5 g der nachstehenden Verbindungen wurden beim *Aspergillus niger* in einer kalkfreien Mineralsalzlösung, die 0,5 g salpetersaures Ammon als Stickstoffquelle enthielt, gewonnen:

	Oxalat	Pilzernte	Verhältnis beider
Glykose	0,278	0,228	1,2
Glyzerin	0,240	0,475	0,5
Olivenöl	0,194	0,810	0,24
Chinasäure	0	0,226	0,00
Weinsäure	0	0,155	0,00
Zitronensäure	0	0,240	0,00
Milchsäure	0	0,260	0,00
Weinsaures Kalium	0,550	0,032	17,1
„ Ammon	0,767	0,030	25,6
Pepton	0,530	0,162	3,3

In der letzten Spalte vorstehender Tafel haben wir das Gewichtsverhältnis zwischen Oxalat und Pilzernte ausgerechnet: man sieht, wie gewaltig es schwankt, von 0 bis 25! Im ganzen scheint um so mehr Oxalsäure gespeichert zu werden, je mangelhafter das Wachstum des Pilzes ist. Nur die Kulturen mit freien Säuren machen von der Regel eine Ausnahme. Es liegt das wohl allein an der Reaktion des Nährbodens, denn in den übrigen Nährstoffen wurde bei saurer Reaktion ebenfalls keine Oxalsäure gefunden. Umgekehrt veranlaßte der Zusatz von säureabsorbierenden Salzen, z. B. sekundären und tertiären Alkaliphosphaten und den meisten Kalksalzen selbst bei *Penicillium* Oxalsäureanhäufung. Ansammlung und Bildung der Oxalsäure ist aber keineswegs gleichbedeutend, denn die Säure kann bereits im freien Zustand von den Pilzen zerstört werden. Lösliche oxalsäure Salze werden vom *Aspergillus* schwer, vom *Penicillium* viel leichter angegriffen. Man könnte deswegen daran denken, den Unterschied, den man zwischen den beiden Pilzen findet, daraus zu erklären, daß *Penicillium* die von ihm gebildete Oxalsäure, wenn sie nicht in bestimmter Weise fixiert wird, auch in neutralen Lösungen verbraucht, während

Aspergillus dazu nur bei saurer Reaktion imstande ist.

Für die Anhäufung der Oxalsäure durch *Aspergillus niger* sind nach *Wehmer* die Temperaturverhältnisse¹⁾ von großer Bedeutung. In Kulturen mit salpetersaurem Ammon als Stickstoffquelle wird bei 8—10° reichlich freie Oxalsäure gebildet, und diese nicht weiter zersetzt. Bei 15—20° nimmt die Oxalsäuremenge bis zu einem Maximum zu, wird aber dann wieder zerstört. Bei 34° tritt dagegen freie Oxalsäure in irgend erheblicher Menge nicht auf, weil sie sofort oxydiert wird. Das wird dadurch bewiesen, daß bei Gegenwart von Kreide sich Kalziumoxalat ansammelt. Ebenso wie Temperaturerhöhung wirkt Ersatz der genannten Stickstoffquelle durch Salmiak oder Ammonsulfat, während Ammonphosphat und -oxalat sich wie Ammonnitrat verhalten. Es scheint das dadurch verursacht zu sein, daß das Wachstum durch das salzsaure und schwefelsaure Ammon ebenso begünstigt wird, wie durch die höhere Temperatur. *Wehmer* selbst versucht allerdings eine andere Erklärung dafür zu geben.

Im ganzen genommen entsprechen also die Resultate *Wehmers* denjenigen *Duclaux*'. Die Oxalsäure ist ein „produit de souffrance“, ein Erzeugnis mangelhafter Ernährung.

Die Anhäufung dieses Stoffes kann eine sehr erhebliche werden. So fand *Wehmer* in einem Falle auf 1,5 g verbrauchten Zuckers

20% im Trockengewicht der Pilze
55% als Oxalsäure,
25% als Kohlensäure

wieder. Die gewöhnliche Kohlensäureatmung zeigt sich also im wesentlichen ersetzt durch eine Oxalsäureatmung.

*Emmerling*²⁾ hat die Oxalsäurebildung des *Aspergillus niger* neuerdings untersucht. Er fand überhaupt keine bei Züchtung des Pilzes auf Kohlehydraten, wohl nur deshalb, weil er unter möglichst günstigen Wachstumsbedingungen untersuchte.

In welcher Weise die Eiweißspaltung durch die Fähigkeit der Pilze, Oxalsäure anzuhäufen, beeinflußt wird, werden wir § 172 sehen.

§ 123. Vollständige Verbrennung der Kohlehydrate. Die Oxydation der Kohlenhydrate zu Kohlensäure und Wasser nach der Formel



kann man als die normale Verbrennung bezeichnen. Sie ist es bekannt-

1) Vgl. auch *Ber. bot. Gesellsch.* 1891. 163.

2) *Zentr. Bakt.* 2. Abt. 10. 274, 1903.

lich auch bei den höheren Organismen. Unter günstigen Bedingungen finden wir sie bei den allermeisten aërob lebenden Mikroorganismen wieder. Wie sich von selbst versteht, wird bei dieser vollständigen Verbrennung mehr Wärme gebildet als bei der unvollständigen, die wir bisher besprochen haben. Das drückt sich darin aus, daß die Mikroorganismen mehr Leibessubstanz im ersten Falle aufbauen können als im letzteren. So fand Wehmer bei dem *Aspergillus niger* ein Trockengewicht von 28% des verbrauchten Zuckers, wenn er den Pilz auf Zuckerlösung mit Salmiakbeigabe züchtete, ein solches von 20% (s. o. S. 392), wenn er das salzsaure Ammon durch salpetersaures ersetzte. Hier wurde der Zucker wesentlich zu Oxalsäure verbrannt, dort zu Kohlensäure und Wasser. Die bei der Oxydation entwickelten Wärmemengen (674 und 493 Kal.) stehen in einem ähnlichen Verhältnis.

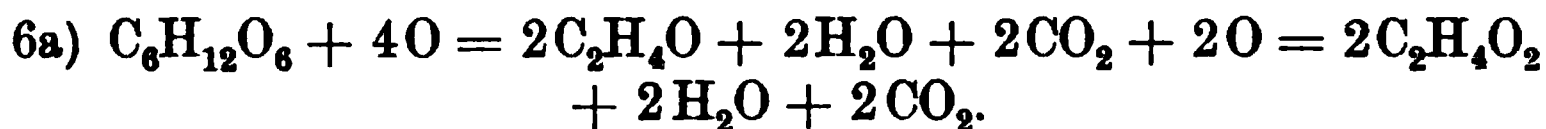
Ungewiß ist, wie der Zerfall des Zuckermoleküls vor sich geht. In manchen Fällen entstehen, wie wir gesehen, als Zwischenprodukte z. B. Oxalsäure und Zitronensäure. Bei Mikroorganismen, die imstande sind, Spaltungsgärungen des Zuckers zu bewirken, könnte man daran denken, daß die Oxydation erst an den Spaltungsprodukten einsetzt, z. B. bei der Hefe am Alkohol, bei Milchsäurebakterien an der Milchsäure. Doch fehlt es an strengen Beweisen für diese Annahme. Der Gegenbeweis kann sogar hier und da dadurch geliefert werden, daß die betreffenden Mikroorganismen nicht imstande sind, ihre Spaltungsprodukte zu verbrennen. Für die obigen Beispiele trifft das z. B. gewöhnlich zu. Doch braucht es kein allgemein gültiges Gesetz zu sein. Ein Beweis dafür ist freilich noch nicht die Tatsache, daß auch die sogenannte intramolekulare Atmung der höheren Organismen im wesentlichen einer alkoholischen (oder milchsauren) Gärung entspricht (vgl. § 65 u. 85). Die Möglichkeit ist aber deshalb nicht zu leugnen, weil es ja Mikroben genug gibt, die Alkohol und Milchsäure, auch Buttersäure, Bernsteinsäure, Ameisensäure usw., wo sie als Gärungserzeugnisse anderer Mikroorganismen erscheinen, oxydieren (Kap. VII). So könnte sich wohl gelegentlich die Funktion der Spaltung und der Oxydation in ein und demselben Bakterium vereinigt vorfinden. D u c l a u x ¹⁾ hat das für seinen *Amylobacter butylicus* und K a y s e r ²⁾ für einige seiner Milchsäurebakterien wahrscheinlich gemacht. Die ursprünglich bei diesen Bakterien durch anaërobe Tätigkeit gebildeten Gärprodukte (Essigsäure, Buttersäure, Butylalkohol, Milchsäure) nehmen später bei Zutritt von Sauerstoff an Menge ab und verschwinden

1) Annal. Pasteur 1895.

2) Ebenda 1894, s. o. S. 31 .

manchmal ganz, wie man wohl annehmen darf, durch Oxydation. Ganz sicher bewiesen ist die Fähigkeit der *Eurotiopsis Gayoni*, eines Schimmelpilzes, den Zucker zu Alkohol zu vergären und den Alkohol zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen (*Laborde*¹⁾, *Mazé*²⁾). Doch ist es *Mazé* — ebensowenig wie *Stoklasa*, der ähnliche Ansichten vertritt³⁾ — trotz aller Bemühungen nicht gelungen, nachzuweisen, daß der Zucker nun *stets* diesen Umweg über den Alkohol machen muß, bevor er oxydiert oder assimiliert wird (vgl. auch S. 389).

Außer den schon genannten Stoffen kommt als Zwischenprodukt auch die *Essigsäure* in Betracht. Häufig entsteht sie erst auf dem Umwege über den Alkohol, den wir bei der *aëroben* Essiggärung kennen lernen werden (§ 135), andere Male aus der *Milchsäure* (s. o. *Kayser*). Aber auch der Weg über das *Aldehyd* oder die unmittelbare Erzeugung wäre denkbar nach den Gleichungen:



Es lohnte sich wohl, bei Mikroorganismen, die sowohl Zucker als *Essigsäure* vollständig verbrennen, z. B. den *Mycoderma cerevisiae*⁴⁾ und Schimmelpilzen, nach diesen Zwischenprodukten zu fahnden. Ihre weitere Verbrennung zu Kohlensäure und Wasser ist ohne weiteres verständlich, ebenso das Auftreten von *Oxalsäure* als Zwischenprodukt.

Andere Zwischenprodukte, die *Glyzerose*, einen Zucker mit drei Kohlenstoffatomen, und den *Formaldehyd* hat *Péré*⁵⁾ bei der Oxydation von Hexosen durch mehrere Arten von Heubazillen, den *Bac. subtilis*, *mesentericus vulgatus* und *Tyrothrix tenuis* entstehen sehen. Um den Oxydationsprozeß zu studieren, bediente sich *Péré* absichtlich einer Nährlösung, die nur ein wenig lebhaftes Wachstum gestattete (10 g Ammoniumphosphat, 5 g Ammonsulfat, 2 g Kaliumphosphat auf 1000 aq + 10% Zucker). Die Destillation der Kulturen ergab außer fixer und flüchtiger Säure, auf die nicht weiter geachtet wurde, eine stark reduzierende und linksdrehende flüchtige Substanz, die als Aldehyd des Glyzerins, als Glyzerose $\text{COH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ aufzufassen ist. Leider fehlten quantitative Bestimmungen. Da es sich aber um strenge *Aërobier* handelte, dürfte die Gleichung



1) *Annal. Pasteur* 1897.

2) *Ebenda* 1902.

3) Vgl. *Kochs Jahresber.* 1905, 513. Nach S. geht die Oxydation vom Alkohol weiter über die *Essigsäure* und *Ameisensäure* durch Vermittlung der „*Acetolase*“ (§ 135) und „*Formilase*“.

4) Vgl. *Beijerinck*, *Zentr. Bakt.* 11. 68.

5) *Annal. Pasteur* 1896, 417.

der Reaktion am besten entsprechen. Als bemerkenswertes Nebenresultat ergab sich, daß der *Bac. subtilis* vorwiegend die Glykose angriff und in einer Saccharoselösung die Fruktose zurückließ, während die beiden anderen Bakterien gerade umgekehrt wirkten (vgl. § 58). Im Laufe der Kultur verschwand der Zucker vollständig aus der Lösung und später auch die Glyzerose. Dabei trat zuletzt eine Spur von Formaldehyd auf, die ebenfalls durch die Bakterien verbrannt wurde. Auch bei der Oxydation des Mannits und Glyzerins wurden von P é r é dieselben Zwischenprodukte gefunden. Wir werden später sehen, daß die Oxydation des Glyzerins durch das Sorbosebakterium B e r t r a n d s einen der Glyzerose isomeren Körper, das Dioxyazeton, ergibt (§ 132).

Andere Arbeiten über die Umwandlung der Kohlenhydrate durch Heubazillen stimmen nicht ganz mit den Ergebnissen P é r é s überein. So konnte K a l i s c h e r ¹⁾ als Produkt der Zersetzung der Zuckerarten durch ein „peptonisierendes“ Milchbakterium nur E s s i g s ä u r e und B a l d r i a n s ä u r e ²⁾ nachweisen, die wahrscheinlich daneben gebildete Kohlensäure wurde freilich nicht bestimmt. Milchsucker wurde bei der Zersetzung nicht hydrolytisch gespalten, wohl Rohrzucker. Ein bemerkenswerter Unterschied zeigte sich in dem Verhalten des Bakteriums gegenüber Traubenzucker und Rohrzucker: Während es auf den übrigen zuckerhaltigen Nährböden nur oberflächliche Wucherungen (Decken) bildete, wuchs es in Traubenzuckerbouillon auch in der Tiefe und trübte sie gleichmäßig. Das würde dafür sprechen, daß der Bazillus bei Gegenwart von Traubenzucker auch (unter Gärung?) anaërob, sonst nur aërob zu gedeihen vermochte. Aus Glyzerin und Milchsäure entstanden dieselben Produkte wie aus den Kohlenhydraten.

In einer neueren Untersuchung fand D e s m o t s ³⁾, daß verschiedene Arten von Kartoffelbazillen ebenso wie der typische Heubazillus und die *Tyrothrix tenuis* Zucker, Stärke, Mannit und Glyzerin bei Gegenwart von Kalziumkarbonat zwar langsam, aber vollständig aufzehrten. Es handelt sich offenbar um eine Verbrennung, bei der als Nebenprodukte Essigsäure und Baldriansäure, ferner Spuren von Alkohol und eine flüchtige Substanz, die in Kälte Fehlingsche Lösung reduzierte, das Azetylmethylkarbinol $C_4H_8O_2$ auftraten (vgl. § 110). Ob der Oxydation Spaltungen, vergleichbar den Gärungen, vorhergehen, oder ob sie wenigstens teilweise direkt erfolgt, muß dahingestellt bleiben.

1) Arch. f. Hyg. 37. 1900.

2) Ob diese aus dem Zucker stammt, ist doch wohl noch zweifelhaft. Immerhin soll Baldriansäure auch aus einer Vergärung der Milchsäure hervorgehen (§ 142). Über die Entstehung aus Eiweiß vgl. § 168 ff.

3) Compt. rend. ac. sc. 138. 581, 1904.

Jedenfalls werden die Säuren so langsam gebildet, daß sie durch das gleichzeitig aus der Eiweißzersetzung hervorgehende Ammoniak neutralisiert werden, eine saure Reaktion also in der Nährflüssigkeit höchstens vorübergehend auftritt.

Wo man hinsieht, trifft man also auf spezifische oxydierende Eigenschaften der einzelnen auf den Luftsauerstoff angewiesenen Organismen, ebenso wie man spezifische Gärfunktionen (§ 84—117) bei den strengen oder gelegentlichen Anaërobiern findet. Mit einer gleichen „oxydierenden Kraft“ des lebenden Protoplasmas ist es offenbar nicht getan.

Alle Kohlenhydrate, einschließlich der Polysaccharide, die Hexosen sowohl wie die Pentosen, Tetrosen usw. scheinen der Oxydation der Mikroorganismen verfallen zu können, während sie den Spaltungsprozessen, wie wir gesehen haben, sehr ungleichmäßig unterliegen. Die Hexosen haben freilich auch hier im allgemeinen den Vorrang. Doch kommen Ausnahmen vor. So sollen nach Krüger und Schneidewind¹⁾ die denitrifizierenden Mikroorganismen ihre zerstörende Tätigkeit in bedeutend größerem Maße ausüben, wenn ihnen Pentosane, als wenn ihnen Traubenzucker oder Mannit zur Verfügung stehen (§ 198).

Ebenso soll auch die Zellulose nach van Iterson²⁾ durch denitrifizierende Bakterien, deren Reinkultur allerdings nicht gelang, also durch den gebundenen Sauerstoff des Salpeters zur Auflösung gebracht werden. Dabei bilden sich große Mengen von Gasen, die ausschließlich Stickstoff und Kohlensäure, keine Spur von Wasserstoff Sumpfgas oder Stickoxydul enthalten. Der Prozeß stellt sich bei Sauerstoffabschluß ein, wenn man Papier, Flachsfasern, Watte oder Leinwand mit einer Lösung von 0,25 prozentigen Kaliumnitrat und 0,05 Kaliumphosphat übergießt und mit Kanalwasser und etwas Moder impft. Zunächst färben sich die Fasern goldig, verschwinden aber allmählich vollständig, wenn man ab und zu für Ersatz der nitrat-haltigen Nährlösung sorgt. So konnte van Iterson im Laufe eines Monats 8 g Zellulose durch 36 g Kaliumnitrat zur Auflösung bringen. Die darin enthaltene Sauerstoffmenge genügt reichlich zur vollständigen Oxydation der Zellulose. Welche Zwischenprodukte dabei entstehen, und ob eine Lösung des Zellstoffs durch ein hydrolytisches Enzym (§ 76) vorhergeht, ist unbekannt. Holz und Torf widersteht dieser Zersetzung, wie es scheint, ebenso wie der Sumpfgasgärung.

1) Landwirtsch. Jahrb. 28 und 29.

2) Verh. kon. Akad. Weetensch. 1903, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 690.

Weniger kräftig ist die Oxydation der Zellulose durch den freien Sauerstoff der Luft. Daß sie aber stattfindet, und zwar in schwach alkalischen Nährlösungen durch Bakterien, in sauren durch Schimmelpilze, hat ebenfalls van I t e r s o n bewiesen. Man nimmt dazu im ersteren Falle am besten eine Lösung von 0,1% Chlorammonium (oder Kaliumnitrat, -nitrit, Magnesiumammoniumphosphat) und 0,05% Kaliumphosphat, der man noch etwas Kreide und Stückchen Papier oder Leinwand beigibt und impft wieder mit Grabenmoder oder dergleichen. Nach einigen Tagen erscheinen auf dem Papier gelbbraune Flecken, die sich schnell ausbreiten. Die Zellulosefasern verschwinden schließlich in einem Bakterien Schleim. Van I t e r s o n sieht als Erreger des Prozesses vornehmlich einen *Bac. ferrugineus* an. Daneben finden sich in großer Menge Spirillen, die aber die Zellulose nicht angreifen. Eine ähnliche Zersetzung erhält man durch Schimmelpilze, wenn man das alkalische (sekundäre) Kaliumphosphat durch das saure (primäre) ersetzt. Van I t e r s o n züchtete 15 verschiedene Arten, unter anderem *Mycogone puccinioides* und *Botrytis vulgaris*. Auch sie bringen die Zellulose, und zwar, wie es scheint, durch Ausscheidung eines Enzyms (vgl. § 76) und nachfolgende Oxydation langsam zum Verschwinden. Gleichzeitig entstehen gewöhnlich dunkle humusartige Pigmente. Über deren eigentliche Natur und Entstehungsart fehlen aber genaue Untersuchungen, so notwendig sie auch wären, um das Problem der Humusbildung zu lösen. Von vornherein ist nicht anzunehmen, daß eine einfache Oxydation von Kohlehydraten dabei eine Rolle spiele, denn die chemische Zusammensetzung der Huminsubstanzen unterscheidet sich von der der Kohlenhydrate im wesentlichen dadurch, daß die ersteren mehr Kohlenstoff enthalten als die letzteren. Das Verhältnis des Wasserstoffs und Sauerstoffs ist in beiden annähernd das gleiche. Wir haben schon früher davon gesprochen (§ 118).

§ 124. Reduktion der Kohlenhydrate: Mannitgärung. Nach den Oxydationen der Kohlenhydrate kommen wir zu den Reduktionsprozessen, denen sie verfallen. Die teilweisen Reduktionen, die allerdings mit Oxydationen zugleich bei der Spaltung des Zuckermoleküls eintreten, haben wir schon bei der Alkohol-, Glyzerin-, Wasserstoff-, Buttersäure- und Sumpfgasgärung kennen gelernt; die genannten Körper enthalten in der Tat im Verhältnis mehr Wasserstoff und weniger Sauerstoff als der Zucker und sind aus diesem teils durch einfache Abspaltung von Kohlensäure, teils durch Aufnahme von Wasserstoff aus dem Molekül H_2O und nachfolgender Abspaltung von Kohlensäure usw. entstanden zu denken. Scheinbar aus dem Rahmen dieser Reaktionen heraus fällt die Bildung des Mannits $C_6H_{14}O_6$ aus

Zucker $C_6H_{12}O_6$. Sie macht den Eindruck einer einfachen Reduktion, d. h. einer Wasserstoffaufnahme in das Zuckermolekül. Bekannt ist die Entstehung von Mannit durch Gärung schon sehr lange. *P e l o u z e* ¹⁾ hat im Jahre 1833 gezeigt, daß der Runkelrübensaft, in welchem frisch ausgepreßt kein Mannit, sondern nichts als Rohrzucker enthalten ist, umgekehrt außer Schleim nichts als Mannit und Milchsäure enthält, sobald er die schleimige Gärung erlitten hat. Von dieser schleimigen Mannitgärung, die auch im Weine vorkommt, werden wir später sprechen (§ 125). Die reine Mannitgärung ist ebenfalls aus dem Wein bekannt. Gefunden wurde der Mannit zuerst von *C a r l e s* ²⁾ vor allem in algerischen Weinen und sein Auftreten durch das Verschneiden des Mostes mit Feigensaft, in dem er immer reichlich vorkommt, erklärt. *J é g o u* ³⁾ und *R o o s* ⁴⁾ deuteten dann die Bildung als krankhaft und führten sie auf Bakterien zurück. In südlichen Gegenden scheint die Gärung deshalb besonders häufig zu sein, weil hohe Temperaturen und starker Zuckergehalt des Weins das Überwuchern ihres Erregers begünstigen. Die genaue Beschreibung, die *G a y o n* und *D u b o u r g* ⁵⁾ von dem „*Bac. manniticus*“ lieferten, läßt keinen Zweifel an seiner ursächlichen Bedeutung zu.

Die mustergültige Arbeit dieser Forscher, deren Hauptergebnisse *L a b o r d e* ⁶⁾ für ähnliche ketten- bzw. fadenbildende Bazillen aus „umgeschlagenem“ Wein bestätigte, haben wir schon bei der Milchsäuregärung erwähnt. Die Tabelle auf S. 291 zeigte uns, daß bei der Vergärung der Glykose, Galaktose und Saccharose viel Alkohol, Kohlensäure und Milchsäure, beträchtliche Mengen von Glycerin und Essigsäure, und Spuren von Bernsteinsäure entstehen. Mannose, Sorbose, Maltose und Laktose und das Trisaccharid Raffinose vergären ähnlich, ein anderes Disaccharid die Trehalose gar nicht; Xylose, eine Pentose, gibt fast ausschließlich Milch- und Essigsäure, nur Spuren von Alkohol und Kohlensäure. Andere Pentosen (Arabinose), Polysaccharide (Dextrine, Stärke, Glykogen, Gummi) ferner die Alkohole (Mannit, Dulzit, Sorbit, Erythrit, Glycerin, Äthylalkohol), Säuren (Milchsäure, Bernstein-, Äpfel-, Wein- und Zitronensäure) und Glykoside werden gar nicht angegriffen.

1) Annal. chim. phys. 52.

2) Compt. rend. 112. 811, 1891.

3) Kochs Jahresber. 1893. 152.

4) Ebenda.

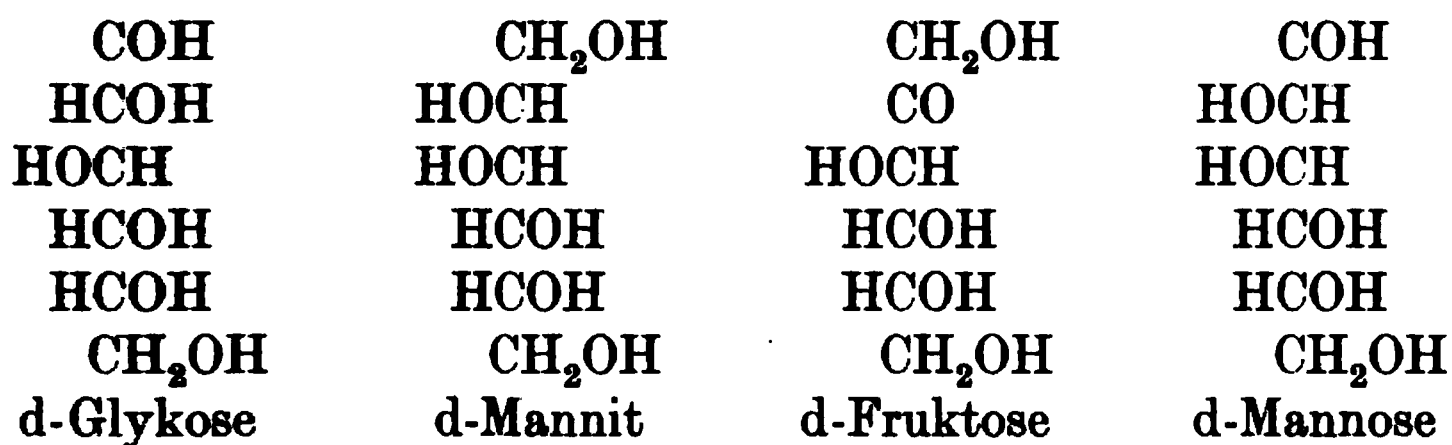
5) Annal. Pasteur 1894 und 1901.

6) Compt. rend. ac. sc. 138. 228, 1904. Die Bezeichnung „umgeschlagener“ Wein (vin tourné oder poussé) wird übrigens auf sehr verschiedene Zustände angewendet (vgl. § 95). Nach *L a b o r d e* sollen die Mannitbildner aber identisch sein mit den Weinsäure vergärenden (§ 147).

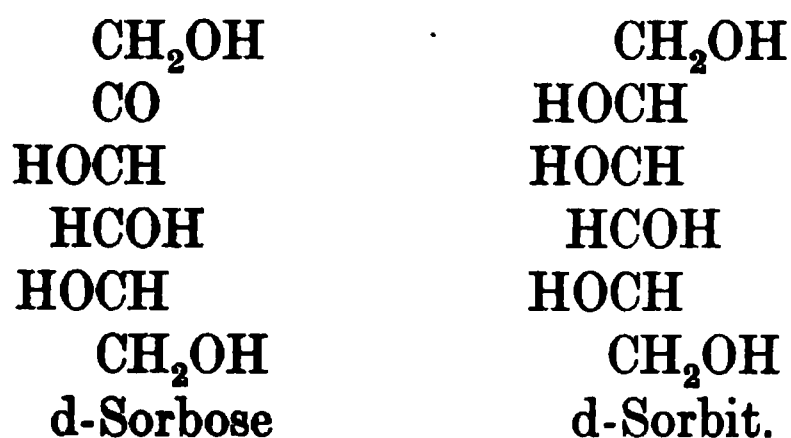
Eine Ausnahme unter den Zuckern macht nur die **F r u k t o s e**. Sie vergärt unter Bildung von

58—72% Mannit,
13—16% Essigsäure,
10—15% Milchsäure,
6—12% Kohlensäure,
etwa 0,6% Bernsteinsäure,
0,9—1,5% Glyzerin.

Alkohol, der bei der Vergärung der übrigen Zucker durch den *Bac. manniticus* ein Haupterzeugnis ausmacht, fehlt hier vollständig, Kohlensäure und Glyzerin, aber auch Milchsäure werden viel weniger gebildet, Wasserstoff fehlt in beiden Fällen. Man sieht, welchen bedeutenden Einfluß wieder die Konfiguration des Zuckermoleküls auf den Verlauf der Gärung hat: nur die Ketohexose Fruktose wird zu Mannit reduziert, die nahverwandten Aldohexosen Glykose und Mannose nicht.



Aber auch eine zweite Ketohexose, die Sorbose, wird nicht etwa zu Sorbit verwandelt, wie man bei ihrem ähnlichen Bau denken könnte:



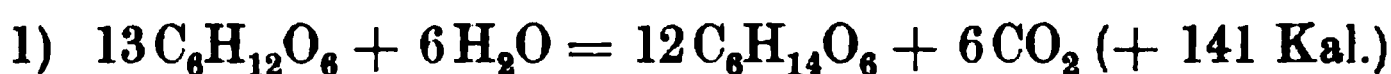
Selbstverständlich gibt der **I n v e r t z u c k e r**, der aus einem Gemisch von Glykose und Fruktose besteht, bei der Vergärung ebenfalls Mannit und daneben Alkohol, aber die Saccharose, aus der er durch Inversion hervorgeht, und die Raffinose, die bei der vollständigen Hydrolyse in Fruktose, Glykose und Galaktose zerfällt, geben beide keinen Mannit, sondern Alkohol. Der Schluß ist also unabweisbar, daß der *Bac. manniticus* die genannten Zuckerarten nicht erst hydrolysiert,

also keine Enzyme, die der Invertase und Raffinase entsprechen, erzeugt, sondern sie unmittelbar vergärt.

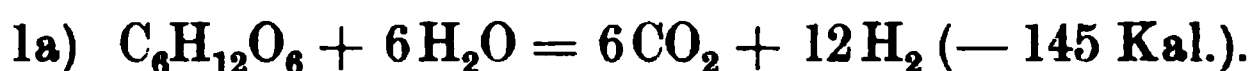
Die Essig- und Milchsäure entstehen bei der Mannitgärung wahrscheinlich durch einfache Spaltung nach den bekannten Gleichungen (vgl. § 98)



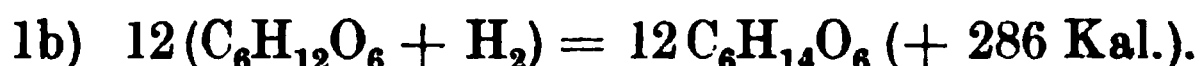
Die Bildung des Mannits und der Kohlensäure wird durch die empirische Gleichung



wiedergegeben. Statt dieser sehr verwickelten Formel kann man auch die folgenden benutzen, die die Reaktion in zwei Absätzen verlaufen lassen: zuerst entsteht durch Spaltung des Zuckermoleküls Kohlensäure und Wasserstoff nach der uns schon bekannten Gleichung der Wasserstoffgärung:



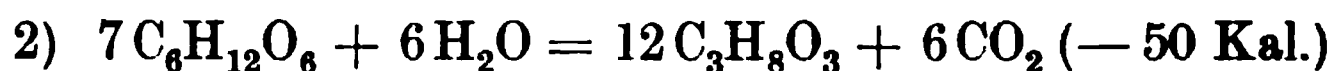
Dann wird der Wasserstoff zur Reduktion des Zuckers verbraucht:



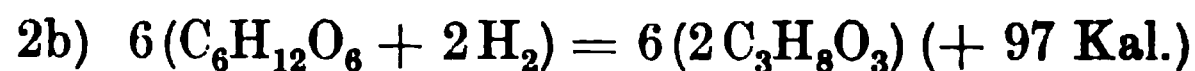
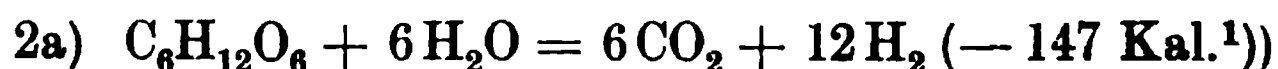
Sollte die Reaktion wirklich in dieser Weise erfolgen, so müßte man sich vorstellen, daß sämtlicher Wasserstoff, der aus der Spaltung 1a entstünde, sofort von dem reduzierenden Enzym in Beschlag genommen und an Zuckermoleküle festgelegt würde, da ja Wasserstoff nicht unter den frei werdenden Gasen erscheint.

Wie man aus den beigefügten Reaktionswärmen sieht, verläuft die Mannitbildung aus Zucker mit kräftiger Wärmeentwicklung ungleich anderen Reduktionen und Synthesen, bei denen Wärme gebunden zu werden pflegt.

Auf die Ähnlichkeit der Mannit- mit der Glyzerinbildung durch den *Bac. manniticus* wurde schon S. 328 hingewiesen. Die für die letztere aufgestellte Gleichung



läßt sich ebenfalls in zwei



1) Die Kalorienzahl ist hier etwas verschieden von der bei 1a, weil die Glykose eine andere Verbrennungswärme hat, als die Fruktose.

zerlegen. Die Gesamtzersetzung erfolgt hier freilich unter Wärmebindung. Da aber nebenher kräftige exotherme Zersetzungen — die Essig-, Milchsäure- und Alkoholgärung — verlaufen, bleibt schließlich doch noch ein großer Wärmeüberschuß.

Wie haben wir uns nun den Unterschied in dem Verhalten des *Bac. manniticus* gegenüber der Fruktose einerseits und den übrigen Zuckerarten andererseits zu erklären? Ist es ein und dasselbe Enzym, das dort Mannit, hier Alkohol und Glyzerin erzeugt? Hängt Alkohol- und Glyzerinentstehung überhaupt zusammen? Ist das Alkoholenzym mit der Zymase der Hefe identisch? Nur die letzteren beiden Fragen lassen sich mit einiger Wahrscheinlichkeit beantworten. Auch bei der Vergärung der Fruktose entsteht Glyzerin, wenn auch in kleinen Mengen, dagegen kein Alkohol. Auch sonst wechselt das Mengenverhältnis zwischen Alkohol und Glyzerin zu sehr, als daß man an einen Zusammenhang beider denken könnte (vgl. S. 291). Das Alkoholferment des *Bac. manniticus* kann auch nicht mit der Zymase identisch sein, denn durch die Zymase wird Fruktose fast gleich leicht in Alkohol und Kohlensäure gespalten, wie die Glykose, während bei der Vergärung der Fruktose durch den *Bac. manniticus* überhaupt kein Alkohol gebildet wird. Am einfachsten ist immer noch die Annahme, daß die Zellen unseres Bazillus mit verschiedenen für die einzelnen Prozesse spezifischen Enzymen ausgerüstet sind. Je nach der Beschaffenheit des Gärmaterials tritt das eine oder andere in Wirksamkeit.

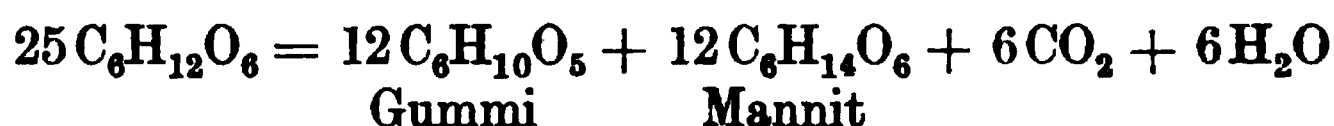
Von anderen Bakterien kommen als kräftige Mannitbildner — abgesehen von den schleimbildenden, die wir gleich besprechen werden — noch gewisse Milchsäurebakterien in Betracht, die *Beijerinck*¹⁾ als „Laktobazillen“ bezeichnet und in die Nähe des *Bac. Delbrückii* stellt (§ 97). Auch diese bilden Mannit nur aus Fruktose. Wahrscheinlich ist auch der *Bac. manniticus* von *Gayon* und *Dubourg* ein Verwandter derselben. Vielleicht gehören auch die Milchsäurebakterien des kranken Obstweins hierher, die nach *Müller-Thurgau*²⁾ ebenfalls aus dem Fruchtzucker Mannit hervorbringen. Gewisse Mengen von Mannit werden übrigens nach *Beijerinck* und *Kayser*³⁾ auch von manchen Milchsäurestreptokokken (*Beijerinck's* Laktokokken § 97), und zwar aus Fruktose, Invertzucker und Saccharose gebildet: Anscheinend wird hier ein invertierendes Enzym gebildet, denn die Rohrzuckerkulturen wirken stark reduzierend.

1) Arch. néerland. 1901 und Zeitschr. f. Spiritusind. 1901.

2) Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1907, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 155.

3) Koch's Jahresber. 1904. 320.

§ 125. **Schleimige Mannitgärung.** Erwähnt wurde schon S. 398, daß bei der „schleimigen Gärung“ des Runkelrübensaftes zuerst *Pelouze* Mannit, Milchsäure und Schleim gefunden hat. *Kircher*¹⁾ studierte bald darauf denselben Vorgang und stellte aus 38 Pfund Runkelrüben 46 g Mannit nebst einem Schleim von der Zusammensetzung des arabischen Gummis dar (vgl. § 128). *Pasteur*²⁾ sah einen ähnlichen Prozeß in krankem Wein und führte auch diese Gärung auf Bakterien (eine Art von Streptokokken?) zurück. Durch ihre Übertragung sollte sich die Krankheit im Wein künstlich hervorrufen lassen. Der Traubenzucker würde dabei in Wasser, Kohlensäure, Mannit und Gummi übergeführt, etwa entsprechend der Formel:



Diese Gleichung ist leicht auf die früher (in § 124) besprochene zurückzuführen. Etwas Mannit bildet auch der *Bac. viscosus vini* *Kramers*³⁾ der aber zu den fadenbildenden Stäbchen gehört. Neuere Untersuchungen und Reinkulturen aller dieser Bakterien fehlen. Indessen isolierte *Happ*⁴⁾ aus Digitalis- und Senegaabkochungen einen *Bacillus gummosus* und *Micrococcus gummosus*, die aus Rohrzucker oder auch aus Maltose Schleim neben Mannit, Milchsäure, Buttersäure und Kohlensäure erzeugen. *Peglion*⁵⁾ beschrieb ferner aus kranken Weinen einen Bazillus, der aus Most mit Bouillonzusatz bei Sauerstoffabschluß Mannit, Gas, Butter-, Essig-, Propion- und Milchsäure und etwas Schleim bilden, bei Sauerstoffzutritt aber auch den Alkohol zu Essigsäure oxydieren soll. Für manche Fälle scheint es also bewiesen, daß Schleim-, Mannit- und andere Gärungen demselben Bakterium zukommen können.

Ob in allen Fällen der Mannit nur aus der Fruktose hervorgeht (§ 124), wäre nach diesen Angaben zu bezweifeln.

§ 126. **Mannitbildung durch Schimmelpilze.** Wie bei höheren Pflanzen, so ist auch in den Zellen von Pilzen der Mannit sehr verbreitet⁶⁾, so bei vielen eßbaren Pilzen, ferner im Sklerotium des Mutterkorns. Nach *Müntz*⁷⁾ kommt er auch im *Penicillium glaucum* vor

1) Annal. Chem. Pharm. 31. 337, 1839.

2) Bull. soc. chim. 61. 30 (nach *Emmerling*), vgl. auch *Etudes sur le vin*, 1866.

3) Zentr. Bakt. 8. 77, 1890.

4) Bakt. u. chem. Untersuchg. über schleimige Gärung. Basel 1893 (Arbeiten d. bakteriolog. Inst. Karlsruhe).

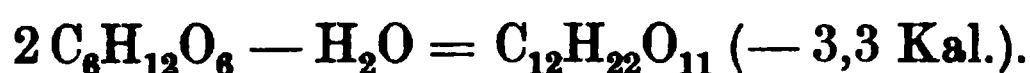
5) Vgl. *Zopf*, Pilze S. 125.

6) Ebenda.

7) Compt. rend. 79. 1182 Arch. chim. phys. 5. sér. 8. 61.

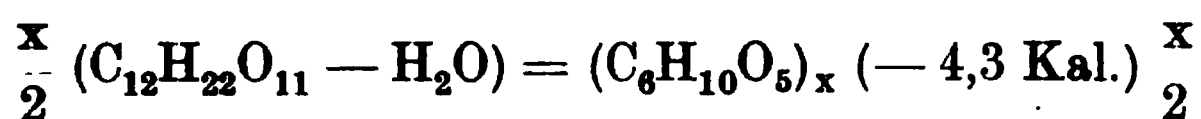
und zwar bei Ernährung mit Stärke, Traubenzucker und Weinsäure. Es muß also eine Synthese des Mannits aus Zucker oder letzterem Stoffe stattfinden. Man hat kaum Grund für die Annahme, daß der Aufbau aus dem Zucker auf einem anderen Wege erfolge als bei der Mannitgärung, die wir eben besprachen. Derselbe Autor vermißte Mannit im Körper von Mucorarten und fand statt dessen Trehalose, ein Disaccharid. Es scheint also Mannit Zucker vertreten zu können (vgl. S. 83).

§ 127. **Aufbau von Disacchariden und Polysacchariden aus Hexosen und Pentosen.** Wie die Mikroorganismen imstande sind, die Polysaccharide Zellulose, Stärke, Gummi zu verflüssigen und zu verzuckern, so können sie umgekehrt Zucker zu Polysacchariden verdichten. Dort haben wir es mit Depolymerisierung und hydrolytischer Spaltung, kurz, mit dem Abbau komplizierter Moleküle, hier mit Anhydridbildung, Polymerisierung, wenn man will mit Synthesen einfachster Art zu tun (S. 204). Der Energieaufwand, der dazu gehört, ist freilich ein recht geringer, kaum meßbarer. So würden nach *Stohmann* und *Langbein*¹⁾ beim Aufbau der Maltose aus Glykose nur 3,3 Kal. verschwinden:

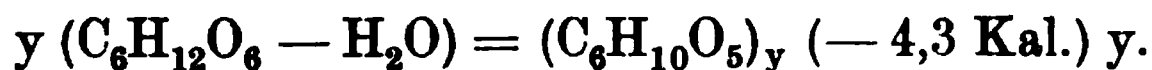


Etwas weniger (3,1 Kal.) erfordert die Entstehung des Rohrzuckers aus Glykose und Laevulose²⁾, etwas mehr (7,8 Kal.) die des Milchzuckers aus Glykose und Galaktose.

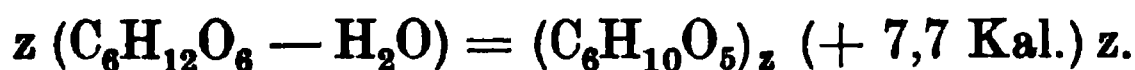
Beim Aufbau der Stärke aus Maltose für jedes Zuckermolekül werden 4,3 Kal.



beim Aufbau der Zellulose aus Glykose ebenfalls 4,3 Kal. gebunden



Merkwürdigerweise findet *Stohmann*, daß bei der Synthese des Dextrans, einer Gummiart, Wärme frei wird:



Alle diese Wärmebestimmungen sind freilich mit Vorsicht aufzunehmen, da die Ausschläge teilweise innerhalb der Fehlergrenze liegen.

In manchen Fällen erscheint das Umwandlungsprodukt des Zuckers nur innerhalb der Zelle, in anderen als Bestandteil der Mem-

1) Journ. prakt. Chem. 45. 322 ff.

2) Unmittelbar — im Kalorimeter — bestimmte *Rubner* die Inversionswärme zu 3,1 Kal. (vgl. § 237).

bran (Zellulose), in wieder anderen als **Ausscheidung** der Zellen, sie entweder hüllenartig umgebend oder frei in der Nährflüssigkeit. Im letzteren Falle spricht man häufig von „Gärung“. Doch liegt, keine Veranlassung vor, alle diese Vorgänge für wesentlich verschieden zu halten. **Gärung** und **Neubildung von Zellsubstanz** gehen ineinander über. Beides sind wahrscheinlich enzymatische Prozesse, wenn das auch bisher nur ausnahmsweise (§ 130) nachgewiesen ist. Man darf sich nicht dadurch täuschen lassen, daß andere Stoffe, wie Milchsäure, Essigsäure, Buttersäure, Bernsteinsäure, Alkohol, Wasserstoff und Kohlensäure nebenher entstehen. Sie verdanken ihren Ursprung, wie wir in den vorhergehenden Abschnitten gesehen haben, anderen Gärungen, die wohl nur indirekt mit der Bildung von Zellulose, Stärke und Gummi zusammenhängen, indem sie unter anaëroben Wachstumsbedingungen die für den Aufbau dieser Substanzen nötige Energie liefern, also nur dieselbe Aufgabe erfüllen, die den Oxydationen, der sogenannten Atmung, unter aëroben Bedingungen zufällt.

Ein praktisch wichtiger, aber für die Auffassung der Dinge gleichgültiger Unterschied besteht darin, daß die Stoffumwandlungen in sehr ungleichem Umfange auftreten. So kann Schleim oder Zellulose in solcher Menge gebildet werden, daß die Kulturflüssigkeit zu einer Gallerte erstarrt, der Sprachgebrauch heißt das gerade Gärung. Kann man den Schleim nur mikroskopisch, die Zellulose nur mikrochemisch nachweisen, so fällt es niemandem ein, diese Stoffe als Gärprodukte zu bezeichnen, und doch haben sie denselben Ursprung. Wir werden im folgenden die extrazellular oder in Gestalt von Hüllen auftretenden Bakterien Schleime besprechen und erst später (§ 130) die intra- und extrazellularen Anhäufungen von Zellulose und Stärke behandeln.

§ 128. **Gummi- oder Schleimgärungen.** Reichliche Schleimbildung wird bei sehr vielen Bakterien beobachtet. Wir geben im folgenden eine Liste der hauptsächlichsten Formen. Genauere chemische Untersuchungen über die Zusammensetzung und den Ursprung des Schleims liegen nicht wenige vor, wir besprechen sie nachher im Zusammenhang (§ 129).

Auf fast allen in der Natur oder im Gewerbe vorkommenden zuckerhaltigen Stoffen tritt gelegentlich Schleimbildung im Gefolge von Bakterienwucherung auf.

Im **Wein** (vgl. § 95), besonders im weißen, ist eine Krankheit schon lange bekannt, bei der der Wein zu einer öligen, fadenziehenden Flüssigkeit wird. **Pasteur**¹⁾ beschrieb einen streptokokkenähnlichen Organismus als Erreger, den späteren sogenannten **Micrococcus**

1) Etudes sur le vin 1866. 62.

viscosus. Bei der Mannitgärung (S. 402) war schon von ihm die Rede. Neßler¹⁾ fand andere Kokken als Erreger, ohne sie weiter zu untersuchen. Auch Kramers²⁾ *Bac. viscosus vini* ist noch keine sichere Reinkultur.

Würze und Bier unterliegen nicht selten der Verschleimung (vgl. § 94). Nach Pasteur³⁾ wäre auch hier ein Streptokokkus die Ursache. Van Laer⁴⁾ beschrieb aus belgischem Bier einen *Bac. viscosus* I und II, Vandam⁵⁾ einen *B. viscosus* III, Heron⁶⁾ aus englischen Bieren einen Kokkus, der die Eigentümlichkeit hat, nur mit Hefe zusammen das Bier schleimig zu machen, Lindner⁷⁾ einen *Pediococcus* (*Sarcina*) *viscosus* aus Weißbier. Nach Beijerinck (vgl. S. 352) verwandelt das *Granulobacter butylicus* und *G. polymyxa* Würze in einen zähen Schleim, nach Lindner⁸⁾ der hefeähnliche Schimmelpilz *Dematium pullulans*. Das Ingwerbier entwickelt sich nach Ward aus wurmförmigen Zoogloen, die aus einer Vereinigung der Hefe mit dem schleimbildenden *Bact. vermiforme* bestehen (vgl. § 111).

Runkelrübensaft ist, wie wir schon bei der Mannitgärung (S. 402) gesehen haben, auch der schleimigen Gärung unterworfen. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine ganze Reihe verschiedener Erreger. Am längsten bekannt ist der sogenannte *Leuconostoc mesenteroides*, oder besser gesagt, ein Streptokokkus⁹⁾, der den sogenannten Froschlaich der Zuckerfabriken, d. h. gallertartige Massen, die zur Betriebsstörung werden können, erzeugt.

Andere Arten von Gallertbildnern aus Rübensaft sind der merkwürdige *Bac. pediculatus* von Koch und Hosaeus¹⁰⁾, der schleimige Substanz einseitig in Form von Stielen, auf denen er sitzt, bildet (s. u.). Ein bewegliches *Bacterium gelatinosum beta* beschreibt Glaser¹¹⁾ als Erzeuger des Froschlaichs, das *Clostridium gelatinosum*

1) Bereitung, Pflege und Untersuchung des Weins 1898 (nach La far).

2) Zentr. Bakt. 8. 77.

3) Etudes sur la bière 1876. S. 5.

4) Mémoir. acad. roy. Belgique 43, 1889.

5) Woch. f. Brauerei 1896. 31.

6) Kochs Jahresber. 1899. 152.

7) Woch. Brauerei 1889. 181.

8) Mikroskop. Betriebskontrolle 1901, S. 289.

9) Liesenberg und Zopf, Beitr. Physiol. u. Morph. nied. Organismen, 1892. Mehrere Arten von Froschlaichstreptokokken züchtete neuerdings Zett now, Zeitschr. f. Hyg. 57.

10) Zentr. Bakt. 16. 225, 1894.

11) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 879, 1895.

L a x a¹⁾, das *Semiclostridium commune*, *rubrum* usw. **M a a ß e n**²⁾. Vielleicht gehören diese beweglichen Bakterien alle zu einer Gruppe, die den Heubazillen (s. u.) verwandt ist.

P f l a n z e n i n f u s e verschiedener Art verfallen häufig einer schleimigen Veränderung, wie schon **K ü t z i n g**³⁾ feststellte, durch Bakterienwirkung. Aus Digitalisabkochung isolierte **B r ä u t i g a m**⁴⁾ einen *Micrococcus gelatinogenes*, der auch andere Infuse in steife Gallerte verwandelte, in zuckerfreien Nährböden aber keinen Schleim bildet, **R i t s e r t s**⁵⁾ *Bact. gummosum* und **H a p p s**⁶⁾ *Bac. gummosus* gehören ebenfalls hierher, desgleichen der *Micr. gummosus* **H a p p s** aus Senegainfus. Die Schleimbildung der **E s s i g b a k t e r i e n** betrachten wir weiter unten (§ 130 u. 135).

In **G e r b b r ü h e n** wird eine ähnliche Verschleimung beobachtet, an der die *Crenothrix Kühniana* beteiligt sein soll⁷⁾.

Die **d e s t i l l i e r t e n W ä s s e r** der Apotheker, z. B. Orangenblütenwasser, erleiden häufig schleimige Zersetzungen; selbst reines destilliertes Wasser kann schleimig werden, wenn es aus Holzfasern organische Stoffe aufnimmt⁷⁾.

T i n t e aus Campêcheholz wird nach **H e r y**⁷⁾ durch einen Kapselbazillus verschleimt.

Die schleimige Gärung der **M i l c h** ist von zahlreichen Forschern untersucht worden. Sie wird anscheinend von Bakterien hervorgerufen, die den gewöhnlichen Milchsäurebakterien nahe stehen (§ 111). Es ist aber dabei zu unterscheiden, ob der Schleim aus dem Milchzucker oder aus dem Kasein entsteht, wie das für den *Streptococcus hollandicus* der „langen Wei“, der fadenziehenden Molke, die zur Bereitung des Eidamer Käses verwendet wird (**G o e t h a r t**⁸⁾), behauptet wird. Nachweislich auf Kosten des Zuckers wird Schleim durch das **L e i c h m a n n s c h e**⁹⁾ und **E m m e r l i n g s c h e**¹⁰⁾ Kapselbakterium und die Kokken **S c h m i d t - M ü l h e i m s**¹¹⁾ erzeugt. Wahrscheinlich ist das auch der Ursprung des Schleims in der schwedischen „Langmilch“,

1) **K o c h s** Jahresber. 1901, 127.

2) Arb. biol. Abteil. Gesundheitsamt. 5, 1905.

3) Journ. prakt. Chem. 11. 386, 1837.

4) **K o c h s** Jahresber. 1891. 222.

5) Zentr. Bakt. 11. 730.

6) Vgl. S. 402.

7) Bei **E i t n e r** in **L a f a r s** Handb. 5. 29.

8) **K o c h s** Jahresber. 1897. 194.

9) Landwirtschaftl. Versuchsstation 43. 373.

10) Ber. chem. Ges. 33. 2478.

11) **P f l ü g e r s** Arch. 27. 490.

die durch *Troili-Pettersons*¹⁾ *Bact. (Strept.) lactis longi*, einen nahen Verwandten des *Str. lacticus*, erzeugt wird, und (mindestens zum Teil) der ähnlichen Schleimgärungen, die nach *Guillebeau*²⁾ ohne oder mit Zusammenhang mit Eutererkrankungen durch *Micrococcus Freudenreichii*, *Bact. Hessii* und einen pathogenen *Bacillus*, nach *Adametz* durch den *Bac. lactis viscosus*³⁾, nach *Löffler*⁴⁾ durch den *Bac. lactis pituitosi*, nach *Hüppe*⁵⁾ und *Flügge*⁶⁾ durch Heubazillen, nach *Duclaux*⁷⁾ durch den „*Actinobacter*“, nach *Burri*⁸⁾ wieder durch eine Abart des *Streptococcus lacticus* hervorgerufen werden. Dazu kommt noch der *Bacillus* der „seifigen Milch“ (*Pseudomonas Weigmanni* Mig.) von *Weigmann* und *Zirn*⁹⁾.

Auch andere Nahrungsmittel, z. B. *Brot*, unterliegen der schleimigen Veränderung. Es scheint sich dabei stets um sporenbildende Bakterien aus der Heu- und Kartoffelbazillengruppe zu handeln, die als *Bac. mesentericus panis viscosi*, *mesentericus fuscus panis viscosi* beschrieben worden sind (*Vogel*¹⁰⁾, *Juckenack*¹¹⁾, *Svoboda*¹²⁾, v. *Czadek* und *Kornauth*¹³⁾, *König*, *Spieckermann* und *Tillmanns*¹⁴⁾). Die Sporen dieser Bakterien kommen in jedem Mehl, aber in verschiedener Menge, vor. Durch Lagern in feuchten Räumen vermehren sich die Bazillen und können dann später, da ihre Sporen der Backhitze widerstehen, im fertigen Brot die Verschleimung hervorrufen.

Die schleimige Beschaffenheit des Harns, die *Malerba* und *Sanna-Salaris*¹⁵⁾ unter dem Einfluß des *Bact. gliscrogenum* beobachtet haben, scheint durch einen Muzinstoff, nicht durch echten Gummi bedingt zu sein.

Bei dem häufigen Vorkommen der schleimigen Gärungen kann es nicht Wunder nehmen, daß gelegentlich zufällig in der Luft, im Wasser

1) Zeitschr. f. Hyg. 32.

2) Kochs Jahresber. 1891. 185.

3) Landwirtsch. Jahrb. 1891 und Zentr. Bakt. 9. 689.

4) Berl. klin. W. 1887. 631.

5) Mitt. Gesundheitsamt 2, 1884.

6) Zeitschr. f. Hyg. 17.

7) Annal. agronom. 1883.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12, 1904.

9) Zentr. Bakt. 15. 466, 1894.

10) Zeitschr. f. Hyg. 26.

11) Ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 109.

12) Ebenda 8. 121.

13) Ebenda 9. 683.

14) Ebenda 11. 61.

15) Zeitschr. physiol. Chem. 15. 539.

und an anderen Orten Bakterien gefunden worden sind, die imstande waren, derartige Prozesse zu bewirken. Dahin gehört der von S c h a r d i n g e r ¹⁾ aus unreinem Trinkwasser isolierte Bazillus und der Streptococcus hornensis, den B o e k h o u t ²⁾ aus mit Rohrzucker versetzter Milch gezüchtet hat.

Schließlich ist auch die Gummibildung, die an manchen Pflanzen auftritt und unter dem Namen G u m m o s i s der Akazien, des Zuckerrohrs (G. Smith³⁾), der Zuckerrüben, des Feigenbaums, Weinstocks usw. bekannt ist, durch Bakterien verursacht. Den Gummi hielt man früher ganz allgemein für ein physiologisches Erzeugnis der Pflanzen selbst. Der Bac. radicola der Leguminosenknöllchen (§ 201) bildet ebenfalls in künstlichen Nährböden Schleim (B u c h a n a n ⁴⁾), in der Pflanze selbst „Infektionsfäden“, die man früher für Bestandteile eines Pilzes gehalten hat (s. u. Myxobakterien).

Andere Schleimbildner kennt man unter der Bezeichnung der K a p s e l b a k t e r i e n (Bac. pneumoniae, Strept. lanceolatus), des „Ascococcus“, „Ascobacterium“ und der sich in allerhand vegetabilischen Aufgüssen bildenden mannigfach geformten „Zoogloen“ (F. C o h n ⁵⁾). Im Tierkörper und in gewissen tierischen Flüssigkeiten (Blutserum) werden auch viele andere Bakterien (Milzbrand, Pest, Streptokokken) zur Kapselbildung befähigt. Man darf sich wohl vorstellen, daß die Schleimhüllen ihnen zum Schutz dienen, jedenfalls bestehen deutliche Beziehungen derselben zur Virulenz dieser Bakterien. Für diejenigen Bakterien, z. B. Streptokokken, die in toten Nährböden bei bestimmter Zusammensetzung derselben (z. B. hohem Rohrzuckergehalt § 129) Kapseln bilden, wäre an eine ähnliche Vorstellung zu denken. Trotzdem wird man gut tun, sie nicht zu sehr zu verallgemeinern, und die Kapselbildung zunächst einfach als Wirkung bestimmter Reize betrachten (§ 4). Die eigentümlichen Kapseln bzw. Zoogloen des Bac. pediculatus wurden schon oben erwähnt, ihnen ähneln außerordentlich die von F a m i n t z i n ⁶⁾ bei seiner Nevskia ramosa beobachteten Formen und ebenso, wenigstens äußerlich, die von M e t s c h n i k o f f ⁷⁾

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 5.

2) Ebenda 6. 161.

3) Ebenda 8. 596; 9. 21; 10. 2 und 11. 23.

4) Ebenda 22. 371, 1909, mit Literatur.

5) Vgl. über Zoogloenbildung des Bac. allantoides L. K l e i n , Zentr. Bakt. 6. 377, 1889. Auch die Gallertklumpen des Ingwerbiers usw. gehören zu den Zoogloen.

6) K o c h s Jahresb. 1891. 42.

7) Annal. Past. 1888. Die Pasteuria würde ganz genau den „gestielten Bakterien“ entsprechen, wenn die von M e t s c h n i k o f f als „Sporen“ betrachteten Gebilde die Bakterien selbst darstellten.

als *Pasteuria ramosa* beschriebenen, parasitisch auf Daphnien in fingerförmig gelappten Verbänden lebenden Mikroorganismen. Auch die merkwürdigen von Thaxter sog. „Myxobakterien“, die namentlich auf Kot leben, aber nach Baur und Quehls¹⁾ neuesten Feststellungen auf künstlichen Nährböden reingezüchtet werden können, erzeugen gleichfalls durch einseitige Ausscheidung eines mehr oder weniger festen Schleims einen zum Teil verästelten selbst Hunderte von Mikromillimetern langen Stiel („Zystophor“), auf dem dann erst die mannigfach gefärbten und geformten aus dichten Bakterienmassen bestehenden Fruchtkörper („Zysten“) pilzartig aufsitzen. Nach Zukal und Stefan²⁾ würde man ferner die Bildung der schon oben erwähnten „Infektionsfäden“ in den Wurzelknöllchen der Leguminosen am besten verstehen, wenn man die Knöllchenbakterien (*Bac. radicola*) als Myxobakterien auffaßte. Die schlauchförmigen Fortsätze der „Bakterienblasen“ Müller-Thurgaus³⁾ haben aber wohl eine andere Bedeutung (vgl. § 129 am Schluß).

Vielen Forschern ist die Unbeständigkeit der Schleimbildung aufgefallen. Die Fähigkeit dazu kann gewonnen und verloren werden (§ 351). Auch darin drückt sich die Ähnlichkeit mit anderen enzymatischen Vorgängen aus.

§ 129. **Zusammensetzung und Entstehung des Bakterien-schleimes⁴⁾.** Am frühesten und eingehendsten ist der Schleim des *Leuconostoc mesenteroides* studiert worden (s. o.). Scheibler⁵⁾ hat ihn schon als Dextran bezeichnet. Reinkulturen hatten wohl erst Zopf und Liesenberg zur Verfügung. Nach ihnen wächst der Spaltpilz in zuckerfreien Nährböden wie andere Streptokokken⁶⁾ ohne Schleimhülle. Letztere bildet sich erst neben Milchsäure und Gasen (Kohlensäure?) aus Rohr- und Traubenzucker, und zwar wird ersterer dabei invertiert. Laktose, Maltose, Dextrin werden zwar angegriffen, aber nicht zur Gallertbildung benutzt. Ein Gehalt des Nährbodens an Chlorkalzium (3—5%) oder Chlornatrium (1—3%) oder Salpeter (1%) befördert die Verschleimung, die unter günstigen Bedingungen — bei einer Temperatur von 30 bis 37° — ganz gewaltige

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 16. mit Lit. und Tafeln.

2) Ebenda 16 mit Taf.

3) Ebenda 20. 353 u. 21. 384, 1908.

4) Vgl. § 27 und Tollens, Handb. der Kohlenhydrate 2. Aufl., 1898. Die Lit. ist meist in § 128 angegeben.

5) Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie 1874. 309.

6) Umgekehrt bilden nach Hlava (§ 4) die gemeinen pathogenen Streptokokken in starken Rohrzuckerlösungen Kapseln, die denen des *Leuconostoc* ähneln.

Ausdehnung annimmt. Luftzutritt ist nicht nötig. Leider fehlen Angaben darüber, wie sich *Leuconostoc* gegenüber der Galaktose und Fruktose verhält. Auch die Zusammensetzung des Schleims verdient nochmals geprüft zu werden.

Nach Scheibler wird er dargestellt, indem man den „Froschlaich“ mit Alkohol auszieht (um die fettartigen Substanzen zu entfernen), mit Kalkmilch wiederholt kocht, filtriert, den überschüssigen Kalk durch Einleiten von Kohlensäure entfernt, eindampft, in der Ruhe klärt, dann mit Salzsäure ansäuert und unter starkem Umrühren mit Alkohol niederschlägt. Der Niederschlag wird gereinigt dadurch, daß man ihn abfiltriert, in kaltem Wasser löst, mit Alkohol bis zur Trübung versetzt und von den Abscheidungen, die sich in der Ruhe absetzen, abgießt. Weiterer Alkoholzusatz fällt jetzt den Gummi, der dann durch wiederholte Lösung in Wasser und Alkoholfällung noch von den letzten Unreinigkeiten befreit werden kann. Seine Zusammensetzung ist $C_6H_{10}O_5$, er zeichnet sich durch seine starke Rechtsdrehung vor allen anderen Körpern aus (+ 223), verwandelt sich ferner durch verdünnte Schwefelsäure in Dextrose, nicht wie die meisten anderen Gummiarten in Galaktose (oder Arabinose) und bildet dementsprechend, mit Salpetersäure oxydiert, keine Schleimsäure, sondern Oxalsäure. Die wässrige Lösung reagiert neutral, reduziert kochende Fehlingsche Lösung nicht, wird durch neutrales essigsaures Blei überhaupt nicht, durch basisches Salz nur in starker Konzentration gefällt.

Mit dem Dextran identisch zu sein scheint der Schleim des *Bact. gelatinosum* Glaser's, der ebenfalls aus Rohrzucker nach dessen Inversion gebildet wird. Der Bazillus entwickelt sich freilich nicht ohne weiteres in der Melasse, wohl nach Zusatz von Phosphaten der Erdalkalien. Er erzeugt nebenher Alkohol, etwas Gas und Säure, die aber keine Milchsäure ist. Auf Bierwürze entwickelt er nur wenig Schleim.

Dextran bildet nach Boekhout auch der *Streptococcus hor-nensis* auf Rohrzuckerlösungen von 4 bis 40%, aber nur, wenn ihm daneben Pepton als Stickstoffnahrung geboten wird. Die flüssigen Nährböden werden dabei gallertig, die festen zeigen mächtige Schleimwülste. Aus 100 g Rohrzucker in 20 prozentiger Lösung ließ sich durch Zusatz des 2—3 fachen Volumens Alkohol und nachfolgendes Auswaschen mit 50 prozentigem Alkohol 20—25 g des Gummis in ziemlich reinem Zustand gewinnen. Bei seiner Hydrolyse mit Schwefelsäure lieferte er einen rechtsdrehenden reduzierenden Zucker. Die übriggebliebene alkoholische Flüssigkeit enthielt linksdrehenden Zucker und reduzierte ebenfalls. Nach Hydrolyse mit Salzsäure erhält man noch stärkere Reduktion und Linksdrehung. Vielleicht war also bei der Schleimbildung Fruktose entstanden und noch ein Rest Rohrzucker zurückgeblieben. Eine genauere Bestimmung gelang Boekhout nicht, auch nicht bei Verwendung von Hefen mit beschränktem Gärungs-

vermögen. Die Zerlegung des Rohrzuckers würde sich nach ihm in folgender Weise ausdrücken lassen:



Daneben bilden sich nur unmeßbare Mengen von Gas und Säure.

Ein Lävulan ist dagegen die von dem *Clostridium gelatinosum* L a x a s und dem *Semiclostridium Maaßens* ebenfalls aus Rohrzucker gebildete Gallerte, da sie mit Säuren gekocht die linksdrehende Fruktose, nicht Dextrose liefert. Als Nebenprodukte entstehen aus dem invertierten Rohrzucker neben Hexosen Kohlensäure und Alkohol, Ameisen-, Essig- und Milchsäure.

Ein G a l a k t a n ist nach E m m e r l i n g der Schleim, den der *Bac. aërogenes* aus Milchzucker oder Galaktose, nicht aber aus Glykose erzeugt (vgl. u. S c h a r d i n g e r). Er unterscheidet sich dadurch von Dextran, daß er viel weniger stark rechts dreht, mit verdünnter Schwefelsäure Galaktose und mit Salpetersäure Schleimsäure gibt.

K r a m e r s Bazillen aus Wein bilden aus Rohrzucker, Milchzucker, Glykose, Fruktose und auch aus Stärke Schleim von der Formel $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$. Ob die „Viskose“ B é c h a m p s ¹⁾ und der Gummi P a s t e u r s damit identisch sind, muß zweifelhaft bleiben, da diese Forscher noch nicht mit Reinkulturen gearbeitet haben. Während wohl alle übrigen Schleimbildner auch bei saurer Reaktion gedeihen, wächst der *Bac. viscosus sacchari* K r a m e r s nur auf neutralen oder alkalischen Nährböden.

Verschieden ist jedenfalls wieder das Produkt des R i t s e r t s c h e n *Bact. gummosum*. Es entsteht nur aus Rohrzucker, nicht aus Glykose und Milchzucker. Von dem Dextran S c h e i b l e r s unterscheidet es sich auch dadurch, daß es optisch i n a k t i v ist. Die Schleimbildung findet noch statt in Zuckerlösung von 40%, und ist am energischsten in einer 30 prozentigen Lösung, in der 6,5% Schleim entsteht. Auch hier begünstigt Zusatz von Aschenbestandteilen die Gärung.

Man kann überhaupt sagen, daß bei genauer Untersuchung sich die Schleimgärungen als ebenso spezifisch erweisen, wie die anderen Gärungen, die wir früher behandelt haben. Weitere Beispiele dafür haben H a p p und G. S m i t h geliefert: der *Bac. gummosus* vermag nur Saccharose, der *Micrococcus gummosus* auch Maltose zu Schleim zu verarbeiten. Neben dem Schleim, dem die Formel $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ zukommt, entstehen

1) Compt. rend. 93. 78.

geringe Mengen von Mannit, Milch-, Butter- und Kohlensäure. Die Saccharose wird dabei invertiert, denn freie Glykose läßt sich in der Kultur nachweisen.

Sehr mannigfaltige Verhältnisse hat Smith bei den Schleimgärungen aufgedeckt, die als Bakterienkrankheiten an vielerlei Bäumen auftreten. Das Bacterium acaciae erzeugt A r a b i n, das Bact. metarabicum M e t a r a b i n, das Bact. pararabicum P a r a r a b i n, das Bact. Persicae eine vierte Gummiart, die dem Pararabin nahesteht. Daneben entwickelt die Gärung bei den beiden ersten Bakterien etwas Alkohol und Kohlensäure, ziemlich viel Linksmilchsäure und wenig Bernsteinsäure, Essigsäure und Ameisensäure; bei dem Bact. metarabicum wird die Milchsäure durch Buttersäure ersetzt; beim Bact. persicae finden sich beide Säuren nebeneinander. Das Verhalten der genannten Mikroorganismen zu den einzelnen Kohlenhydraten ist ein ebenso ungleiches. Das Bact. pararabicum invertiert den Rohrzucker nicht, obwohl es ihn in schleimige Gärung versetzt.

Das Arabin zeigt die Reaktionen des arabischen Gummis, d. h. es gibt bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure Arabinose und Galaktose (durch ihre Osazon festgestellt), mit Salpetersäure Schleimsäure und Oxalsäure, bei Destillation mit Salzsäure Furfurol, wird durch basisch essigsaures Blei, nicht durch neutrales, gefällt, reduziert Fehlingsche Lösung nicht. Das Metarabin ist ähnlich zusammengesetzt, aber in Wasser unlöslich und in Alkalien löslich; das Pararabin zeichnet sich dadurch aus, daß es sehr widerstandsfähig ist gegen verdünnte Säure, aber durch konzentrierte Schwefelsäure auch in Arabinose und Galaktose zerfällt und durch Salpetersäure zu Schleimsäure oxydiert wird. Der Gummi des Bact. Persicae (an Pfirsich-, Mandel- und Zederbäumen) ist in verdünnten Säuren und saurem Alkohol löslich und wird leicht hydrolysiert in Arabinose und Galaktose.

Auch die Bazillen v a n L a e r s zeigen Eigenheiten: beide verschleimen Bierwürze und Milch, d. h. Malz- und Milchzucker, bemerkenswerterweise a u c h m i l c h - u n d w e i n s a u r e S a l z e. Nur der Bac. viscosus I vermag den Rohrzucker zu vergären. Charakteristisch ist eine braune Färbung und ein Geruch, der dabei auftritt. Von sonstigen Nebenprodukten wird Kohlensäure erwähnt. Enthalten die Nährlösungen, z. B. Bier, zu viel Zucker, so bilden die Mikroorganismen keinen Schleim, zuviel Säure schadet ebenfalls, nicht ein selbst hoher Alkoholgehalt; die Temperatur kann dabei von 7 bis 42° schwanken. Es sei hierbei erwähnt, daß manche pathogenen Streptokokken sich gegenüber der Zuckerkonzentration gerade umgekehrt verhalten. Während sie in dünnen Lösungen keine Spur von Schleim erzeugen, bilden sie dicke Kapseln und Gallerten, wenn der Gehalt an Rohrzucker auf 14% steigt (B o e k h o u t, H l a v a). V a n L a e r hat auch chemische Untersuchungen des Bakterien Schleims vorgenommen.

Sie beweisen, daß der wasserlösliche Gummi mit einer unlöslichen stickstoffhaltigen Substanz vergesellschaftet ist. Vielleicht gilt das auch für andere Bakterien-schleime, insbesondere die „Kapseln“ und Zoogloen.

Vandams Bazillus unterscheidet sich von den vorgenannten dadurch, daß er keine Kohlensäure entwickelt und des Luftsauerstoffs zur Bildung von Schleim bedarf. Außerdem vermag er aus wein- und milchsauren Salzen keinen Schleim zu erzeugen.

Wenig wählerisch in Bezug auf den Grundstoff für die Schleimproduktion ist der Milchbazillus Leichmanns: Glykose, Fruktose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Laktose sind dazu geeignet, nicht Mannit, Gummi arabicum und Stärke. Nebenher entstehen Milchsäure, etwas Äthylalkohol und Gase.

Diesem Organismus schließt sich die von Schardinger¹⁾ studierte Varietät des Bac. aërogenes durch ihre Eigenschaften unmittelbar an. Die Analyse des Bakterien-schleims ergab ein Kohlenhydrat von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$, das bei Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure (und Oxalsäure) ergab, nach Hydrolyse mit Salzsäure reduzierte und das polarisierte Licht nach rechts drehte, während es vorher optisch unwirksam gewesen war. Der Gummi besteht also wenigstens teilweise aus Galaktan. Schardinger hält es für wahrscheinlich, daß dem Gummi, der gallertig, aber nicht fadenziehend ist, in Kulturen ein muzinähnlicher, d. h. eiweißartiger Schleimstoff beigemischt ist, der vielleicht aus den Bakterienkörpern gewonnen werden kann und wohl die Ursache ist, daß auch zuckerfreie Kulturen etwas schleimig sind²⁾.

Der in fadenziehendem Brot vorkommende Bakterien-schleim ist nach König, Spieckermann und Tillmanns kaum rein darzustellen, er enthält aber größtenteils dextrinartige Körper der Glykose-, nicht der Galaktosegruppe.

Der letzte Forscher, der sich mit der Schleimbildung des Bac. radicola beschäftigt hat, Buchanan, fand eine gewisse Übereinstimmung in der Zusammensetzung des Schleims, indem er stets die Reaktion des Dextrans ergab und stickstofffrei war, und eine ebenso große Mannigfaltigkeit der Stoffquellen, aus denen er herstammte. Unter den Ammoniaksalzen der organischen Säuren genügten die Bernstein- und Zitronensäuren, nicht die milchsauren (s. o. van Laer) als einzige Kohlenstoffquelle, um (freilich kleine) Schleim-

1) Über die Darstellung vgl. die Originalarbeit (S. 408).

2) Vgl. auch die Schleimbildung der Milzbrand- und Pyocyaneus-bazillen S. 70/71.

mengen zu erzeugen. G l y z e r i n, das anderen Forschern niemals Ergebnisse geliefert hat, war sogar eine sehr brauchbare Quelle, ebenso alle möglichen Kohlenhydrate, einschließlich Galaktose, Fruktose, Rhamnose, Mannose, Melibiose, Inosit und endlich Mannit. Asparagin und Pepton genügten zwar nicht allein, steigerten dagegen die Schleimbildung als Zusatz zu oben genannten Stoffen oft erheblich. Der Verfasser läßt wohl mit Recht den Schleim in der Zelle entstehen und sich als äußersten Teil der Bakterienmembran (Kapsel) von ihm ablösen, nicht durch Synthese außerhalb der Zelle sich bilden.

Während nicht bezweifelt werden kann, daß es sich bei den bisher besprochenen Beispielen im wesentlichen um echte Gummiarten, also Kohlenhydrate handelt, hat G o e t h a r t nachgewiesen, daß der vom *Streptococcus hollandicus* entwickelte Schleim der „langen Wei“ eine Art von M u z i n mit einem S t i c k s t o f f g e h a l t v o n 10 bis 12 % ist (s. o.). Allerdings braucht der Streptokokkus Zucker, um gut zu wachsen und Schleim zu bilden, doch geht der Zucker nicht in Schleim über, sondern wird zu Milchsäure vergoren. Auch das *Bact. gliscrogenum* aus schleimigem Harn gehört hierher (s. o. M a l e r b a und S a n n a - S a l a r i s), wahrscheinlich auch die Myxobakterien, die nach Q u e h l auf Mineralsalzpeptonagar ihre pilzähnlichen Fruchtkörper bilden und durch Zucker in ihrer Entwicklung nicht gefördert werden.

Unbekannt ist die Zusammensetzung und Bildung der sogenannten Infektionsfäden der Knöllchenbakterien. Jedenfalls bestehen sie nicht aus Zellulose. Möglich wäre es, daß sie, wie die Stiele der Myxobakterien, durch einseitige Schleimausscheidung entstünden (S. 409). Die Bildung von Schleim auch in Reinkulturen ist bei dem *Bac. radicola* ja nachgewiesen. Die in den Knöllchen selbst sich entwickelnden Bakterienhaufen würden dann gewissermaßen den sich im Freien entwickelnden Zysten der Myxobakterien entsprechen. Einen anderen Ursprung haben anscheinend die Fäden und Schläuche, die den „Bakterienblasen“ M ü l l e r - T h u r g a u s aufsitzen. Man kann ihre Bildung zum Teil unter dem Mikroskop beobachten, wenn man destilliertes Wasser zu den Blasen setzt. Eine Stelle der Wand dehnt sich aus, platzt und stülpt sich röhrenförmig unter beständiger Verlängerung und Abscheidung eines Gerinnsels in der Spitze vor. Das macht den Eindruck, als ob ein Teil des in der Zyste enthaltenen Bakterienschleims bei seinem Austreten unter dem Einfluß eines in der umgebenden Flüssigkeit vorhandenen Stoffes (Gerbsäure?) zu einer Röhre geränne. Andere Male scheinen die Anhängsel der Zysten freilich fest und nicht von Gerinnseln umgeben. Die Blasenwand selbst bildet sich nach M ü l l e r - T h u r g a u vielleicht in ähnlicher Weise als Niederschlagsmembran. Jedenfalls gestattet sie den Durchtritt von Nährstoff und

ist nicht nur dehnbar, sondern selbst wachstumsfähig, denn die Blasen nehmen in den Fruchtsäften, in denen sie einmal entstanden sind, an Inhaltsmasse und Größe zu. Zu Anfang handelt es sich übrigens um einfache, durch dicken Schleim zusammengehaltene Zoogloen, ohne Wand. Erst später bildet sich die letztere unter Verflüssigung des Schleims. Die mikrochemische Untersuchung der Blasenwand hat keinen Anhaltspunkt für ihre Zusammensetzung ergeben.

§ 130. **Bildung von Stärke und Zellulose.** Das Vorkommen des Glykogens, der Stärke und der Zellulose bei den Bakterien und Pilzen wurde schon bei der chemischen Zusammensetzung ihrer Leiber besprochen (§ 27). Dort wurde auch erwähnt, daß das Glykogen bisher nur innerhalb der Zellen gefunden worden ist. Die Bildung der beiden anderen Stoffe erfolgt dagegen unter Umständen in solchem Umfange, daß man wie von einer Schleimgärung von einer Stärke- und Zellulosegärung reden könnte. Beispiele dafür bieten namentlich die *Essigbakterien* (vgl. § 135). Einige von ihnen, z. B. *Bact. aceti*, bilden zwar schleimige Massen (die gewöhnliche „Essigmutter“), die chemisch wohl dem Gummi nahe stehen. In einen ähnlichen, doch festeren, ja lederartigen und teils die Reaktion der Stärke, teils die der Zellulose gebenden Schleim eingebettet erscheinen aber *Bact. Pasteurianum*, *Kützingianum* und *xylinum*. Kaum zu bezweifeln ist von vornherein, daß diese Stoffe in den Bakterienleibern, bzw. in deren Hülle gebildet und dann ausgeschieden werden. Es kommt aber auch vor, daß die Bakterien allein die Jodreaktion geben und der Schleim nicht¹⁾. Man wird, da es sich in solchen Fällen um ältere Decken des *Bact. Pasteurianum* handelt, daran denken müssen, daß die ausgeschiedenen Stoffe sich nachträglich verändert haben. In anderen Fällen vermißt man umgekehrt die Blaufärbung an den Bakterien selber, während die Zwischenmasse sie zeigt. Genauere Untersuchungen der stärkeähnlichen Substanz, wie sie für die zelluloseähnliche des *Bact. xylinum* von *Brown* geliefert sind, stehen übrigens noch aus, eine völlige Übereinstimmung mit Stärke ist schon dadurch ausgeschlossen, daß sie durch Diastase nicht verzuckert wird. Über die Bildungsweise des einen wie des anderen Stoffs ist wenig bekannt. Wahrscheinlich tragen aber zuckerartige Stoffe, die bei der Essiggärung ja niemals fehlen und durch Kondensationsvorgänge sich in Stärke und Zellulose verwandeln könnten (s. o. § 127), in erster Linie dazu bei²⁾.

1) *Lafar*, Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 149, 1895.

2) Beim *Bact. xylinum*, dem Erreger der Sorbosegärung (*B. xylinum*), scheint ein höherer Alkohol, das Sorbit, die Quelle der Zellulosebildung zu sein (§ 132), diese letztere also vielleicht mit einer Oxydation zu beginnen. Über die Beteiligung von Stickstoff vgl. *Emmerling* S. 84.

Zelluloseartige Hüllsubstanzen bilden nach K ö n i g , S p i e c k e r - m a n n und O l i g ¹⁾ auch gewisse Heubakterien. Sie veranlassen in Baumwollensaatmehl zeitweise eine Zunahme der „Rohfaser“ bis zu 20%. Vielleicht kommen Gummistoffe (Pentosane), die gleichzeitig verschwinden, hierfür in Betracht. Zelluloseähnliche Stoffe würden nach M a z é (S. 61) auch in Kulturen der *Eurotiopsis Gayoni* entstehen, wenn man sie im Hungerzustande sich selbst überläßt. Nach dem Verfasser sollen allerdings Eiweißstoffe ihre Muttersubstanzen sein.

Über die Entstehungsbedingungen der stärkeähnlichen, durch Jod rotbraun bis blauviolett sich färbenden Inhaltskörner der Buttersäurebakterien und Anaërobier überhaupt geben einige neuere Untersuchungen Aufschluß. Während die meisten Forscher die Ablagerungen der Granulose (und des Glykogens) in den Zellen als „Vorratsstoffe“ zur Aufrechterhaltung der Ernährung bzw. der Gärung betrachten, möchte G r a ß b e r g e r ²⁾ darin lieber eine Krankheitserscheinung, eine Art von „Zuckerkrankheit“, sehen und begründet das dadurch, daß gleichzeitig Gestaltsveränderungen, gewissermaßen Mißgestaltungen entstehen, und ein abnormer Stoffwechsel (Buttersäuregärung) auftrete, ferner die mit der *Clostridium*-bildung gewöhnlich verknüpfte Sporenbildung gelegentlich ausbleibe, und die ganze Kultur öfters — ohne oder mit Sporen — wenig lebensfähig sei. Man wird dieser Auffassung insofern wenigstens nicht jede Berechtigung versagen können, als allerdings der ganze Vorgang nicht selten den Eindruck einer einseitig übertriebenen Entwicklung macht. Indessen fragt es sich doch, ob nicht die ungünstigen Bedingungen, in denen die Buttersäurebazillen durch unsere künstliche Züchtung geraten, an dieser verfehlten Entwicklung zum großen Teil die Schuld tragen. Insbesondere denken wir dabei an die Anhäufung von schädlichen Stoffwechselerzeugnissen (§ 47), z. B. von Säure, die unter natürlichen Verhältnissen, wo Salze oder alkalische Erden eine zu starke Säuerung verhüten, nicht so leicht vorkommt. Die wichtige Bedeutung der Alkalinität der Nährflüssigkeit für die Bildung und die Widerstandsfähigkeit der Anaërobiersporen hat neuerdings besonders von H i b l e r ³⁾ hervorgehoben (vgl. S. 138). Demselben Forscher verdanken wir Untersuchungen über die Bedingungen der Granuloseablagerung, *Clostridium*-bildung⁴⁾ und Beweglichkeit. Wie die letztere, die uns hier nichts angeht, wird auch die Bildung von Granulose und „Blähformen“ durch saure Reaktion gehemmt, durch alkalische gefördert. So z. B. kam eine solche beim

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 539, 1903.

2) Arch. f. Hyg. 48. 35, 1904.

3) Untersuchungen über pathogene Anaëroben usw., 1908, S. 184 ff.

4) Ebenda 157 ff.

Bazillus des Gasbrandes auf Kartoffeln¹⁾, die mit Sodalösung überschichtet waren, erst zu Gesicht, wenn der Sodagehalt über 0,5% hinausging. Im Traubenzuckeragar zeigte sich ein ähnliches Verhältnis, wenn auch hier beide abnormen Bildungen weit seltener waren. Beim Rauschbrandbazillus wurden am meisten Stärke und Clostridien gebildet in Traubenzucker- und Kartoffelkulturen mit 0,25—0,5% Soda. Der Bac. enteritidis sporogenes Kleins und der bewegliche Buttersäurebazillus (Amylobacter) entwickelten beides am reichlichsten in Kartoffeln mit 1,5—2,5% Soda. Die Bazillen des malignen Ödems (Koch) und Tetanus bildeten in Traubenzuckeragar mit 1,5—2% zwar Blähformen, aber keine Granulose, in Agar mit geringerem Sodagehalt trat die letztere aber beim Ödembazillus, und auf Kartoffeln mit 0,5% Soda auch beim Tetanusbazillus ausnahmsweise in Spuren auf. Der Bac. botulinus ließ dagegen stärkehaltige Clostridien in Kartoffeln mit 0,5% Soda entstehen. Wie man sieht, gelingt es unter diesen Umständen auch bei solchen Anaëroben, Bildung von Stärke und Blähformen hervorzurufen, bei denen eine solche im allgemeinen nicht bekannt ist²⁾.

Die Bildung der Stärke, der Zellulose, des Glykogens, wie der zusammengesetzten Kohlenhydrate überhaupt werden wir uns als eine enzymatische vorstellen dürfen, da von verschiedenen Seiten die Möglichkeit aufgedeckt worden ist³⁾, die gelöste Stärke im Reagensglas durch „Amylokoagulase“ oder Amidozellulase in ungelöste zurück zu verwandeln, ferner die Entstehung der Maltose (Isomaltose) aus Glykose durch Hefemaltase (S. 239), der Laktose (Isolaktose) aus Glykose und Galaktose durch Laktase (S. 241), die eines Polysaccharids aus Zucker durch Hefepreßsaft (S. 263) festzustehen scheint.

1) Andere stärke- oder glykogenhaltige Nährböden (Blutserum und Fleischsaftagar) ergaben ungefähr die gleichen Befunde. Bezüglich der übrigen Zuckerarten vgl. die Arbeit selbst.

2) Auch die Form der Sporen sowie ihre Bildung überhaupt unterliegt nach von Hibler ähnlichen Schwankungen, so daß durch seine Untersuchungen die früher beliebte auf die morphologischen Unterschiede gegründete Abgrenzung der Anaërobier voneinander endgültig als eine künstliche erkannt worden ist.

3) Wolf und Fernbach, Compt. rend. ac. sc. 137. 718; 138, 49; Annal. Pasteur 1904. 3; Magnessen, Compt. rend. 137. 797 und 1266.

Kapitel VII.

Wandlungen der Alkohole, Fette und Fettsäuren.

§ 131. Umwandlungen der höheren Alkohole. Gärungen. Die höheren Alkohole („Zuckeralkohole“), als deren Aldehyde die Zucker aufgefaßt werden können, kommen seltener und in kleineren Mengen in der Natur vor, als die letzteren und haben deshalb schon eine geringere Bedeutung für den Stoffwechsel der Mikroorganismen. Am weitesten verbreitet ist unter ihnen der Mannit $C_6H_{14}O_6$ und das Glyzerin $C_3H_8O_3$, letzteres allerdings meist in gebundener Form in den Fetten, aus denen es aber leicht abgespalten wird (vgl. § 137). Die Umwandlungen, denen diese Körper unterliegen, ähneln durchaus denen der Kohlenhydrate, und zwar der einfachen Zuckerarten, die wir im vorhergehenden Kapitel besprochen haben. Wir finden auch bei ihnen die Spaltungen, die wir als Alkohol-, Milchsäure-, Essigsäure-, Wasserstoff-, Buttersäure-, Butylalkoholgärung usw. kennen gelernt haben, ferner Oxydationsprozesse und Synthesen; natürlich erscheint der Verlauf etwas verändert durch ihre etwas abweichende Zusammensetzung. Im ganzen genommen scheinen sie aber durch die Aufnahme von Wasserstoffatomen gegenüber den Angriffen der Mikroorganismen widerstandsfähiger geworden zu sein als die entsprechenden Zucker¹⁾. Auch hier begegnen wir bei den isomeren Körpern je nach ihrer Konfiguration sehr verschiedenen Prozessen.

Wir besprechen hier nur die Spaltungen und Oxydationen und lassen die Synthesen unberücksichtigt, weil sie mit Ausnahme derjenigen der Fette (§ 152) wohl gewöhnlich jene Veränderungen voraussetzen. Doch werden wir schon bei den Spaltungen einige synthetische Prozesse kennen lernen.

Die reine Alkoholgärung, der die Hexosen unterliegen, finden wir bei den höheren Alkoholen nicht wieder. Die Hefen vermögen sie über-

1) Die Angabe von Frankland, Stanley und Frew (s. u.) der *Bac. pneumoniae* vergäre leichter d. h. rascher Mannit als Glykose, beruht vielleicht nur auf Zufälligkeiten.

haupt nicht zu vergären, obwohl sie z. B. Glykol, Glyzerin, Erythrit, Querzit, Mannit assimilieren, d. h. wohl unter Oxydation zum Wachstum verbrauchen können (L a u r e n t ¹⁾). Vielen Bakterien gegenüber verhalten sie sich anders, sie zerfallen unter ihrem Einfluß gewöhnlich gemischten Gärungen, wie die Zucker es auch tun. Ein Beispiel dafür haben wir schon in den Untersuchungen Grimberts über den *Bac. pneumoniae* (Friedländer) kennen gelernt (S. 292). Vergoren werden durch ihn außer den Zuckerarten Mannit, der isomere Dulzit und Glyzerin. Die Gärprodukte sind Alkohol, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, und zwar in wechselnden Verhältnissen. Beim Dulzit überwiegt die alkoholische, beim Mannit und Glyzerin die Milchsäuregärung. Letztere Säure fehlt ganz beim Dulzit und wird hier ersetzt durch die Bernsteinsäure, ein Verhältnis, das wir ja auch sonst bei Vergärung der verschiedenen Zucker gefunden haben (S. 302). Leider hat Grimbert keine gleichzeitigen Gasanalysen vorgenommen. Wahrscheinlich werden Kohlensäure und Wasserstoff entwickelt, und zwar letzteres in überwiegender Menge. Der *Bacillus formicicus* Omelianskys (§ 140), der sonst völlig verschieden ist von dem *Bac. pneumoniae*, vergärt Mannit und Dulzit in gleicher Weise. Auch durch ihre übrigen Eigenschaften gehören hierher ferner die von Tate²⁾, Grimbert und Legros³⁾ untersuchten Bazillen.

Dagegen unterscheiden sich die von Frankland, Stanley und Frew⁴⁾ sehr gründlich studierten „Pneumoniekokken“ (= Bazillen Friedländer's) schon dadurch, daß sie zwar Mannit, aber nicht Dulzit und Glyzerin vergären, außerdem bei der Vergärung des ersteren die Milchsäure vermissen lassen und, neben viel Wasserstoff und Kohlensäure in bestimmten Verhältnissen, etwas Ameisen- und Bernsteinsäure erzeugen. Bei dem *Bac. aërogenes*, der von den Pneumoniebazillen kaum scharf zu trennen ist, sah Emmerling⁵⁾ ebenfalls Milchsäure fehlen, und statt ihrer traten Bernsteinsäure und Alkohol in den Vordergrund, während flüchtige Säuren spärlich entwickelt wurden. Auch Frankland und Frew⁶⁾ studierten einen ähnlichen Bazillus (*B. ethacetosuccinicus*), der nicht nur aus Dulzit, sondern auch aus Mannit viel Bernsteinsäure neben Alkohol, Essigsäure, Wasserstoff

1) Annal. Pasteur 1889. 114.

2) Transact. chem. soc. (Kochs Jahresber. 1893. 191).

3) Compt. rend. soc. biol. 1900. 1424.

4) Transact. chem. soc. (Kochs Jahresber. 1891. 134).

5) Ber. chem. Ges. 33. 2477, 1900, vgl. auch Zersetzung stickstofffreier org. Subst. durch Bakterien, 1902. Lit.

6) Transact. chem. soc. (Kochs Jahresber. 1892. 229).

und Kohlensäure und etwas Ameisensäure bildete. Bernsteinsäure und Milchsäure fehlten dagegen nach Frankland und Lumsden¹⁾, wenn sie die beiden Alkohole²⁾ durch ihren *Bac. ethaceticus*, der freilich auch in den übrigen Eigenschaften von der Aërogenesgruppe abzuweichen scheint, vergären ließen. Äthylalkohol überwog unter den Produkten, daneben entstanden Essigsäure, Ameisensäure und wieder viel Wasserstoff und Kohlensäure.

Der dem *Bac. pneumoniae* und aërogenes zunächst stehende *Bac. coli communis* bildet nach Harden aus dem Mannit wie aus der Glykose (S. 318) neben Milchsäure etwas Ameisensäure und Bernsteinsäure und erhebliche Mengen Wasserstoff und Kohlensäure, aber statt der Essigsäure, die ganz fehlt, viel mehr Alkohol, aus dem Glycerin sogar nur Alkohol neben den Gasen (und Ameisensäure). Auch die Paratyphus- und Fleischvergiftungsbazillen³⁾ scheinen nach Pottevin aus Mannit mehr Alkohol zu entwickeln als aus Glykose (S. 326). Die Dysenteriebazillen vergären nur Glycerin, nicht Mannit, die Pseudodysenteriebazillen beides, erzeugen aber, wie aus der Glykose, kein Gas und nach Sera (S. 318) überhaupt keinen Alkohol, wohl aber große Mengen Ameisen- und Essigsäure und vielleicht noch etwas Propionsäure. Wenn man nach dem Verhalten der Typhusbazillen zur Glykose urteilen könnte, würden sie dieselben Produkte aus Mannit bzw. Glycerin bilden, wie die Ruhrbazillen.

Die wichtigsten Milchsäurebakterien, Streptokokken wie „lange Bazillen“, die aus Glykose ebensowenig wie Typhus- und Ruhrbazillen Gase oder höchstens etwas Kohlensäure entwickeln (S. 316), tun das auch wohl nicht aus den Zuckeralkoholen, sofern sie die letzteren überhaupt angreifen, was durchaus nicht regelmäßig geschieht (S. 298 u. 348). Über ihre sonstigen Gärprodukte ist kaum etwas bekannt. Doch erwähnt Pottevin, sein Milchsäurebakterium, das Glykose ziemlich glatt in Milchsäure zerlegt (S. 296), habe eine viel schwächere Wirkung auf Mannit, Dulzit und Glycerin und bilde daraus zwar auch viel Milchsäure, aber doch noch 30—40% anderer Stoffe, wie Alkohol, Essig- und Ameisensäure. Einige lange Bazillen, wie der *Bac. manniticus* Gayons, sind nicht nur unfähig, die Zuckeralkohole zu zersetzen, sondern er-

1) Ebenda 231.

2) Nach Frankland und Fox (Roy. soc. Proceed. 46. 346, 1889) wird auch Glycerin zu Alkohol und Essigsäure vergoren.

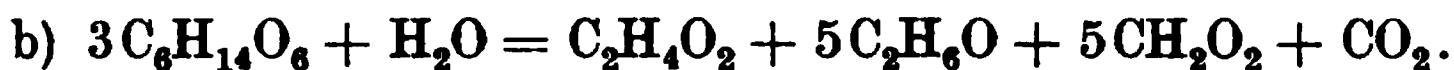
3) Den einzelnen Alkoholen gegenüber verhalten sie sich, wie die Säure- und Gasprobe ergibt (§ 112), ebenso wie die Colibazillen verschieden. Teilweise wird auch *Erythris* vergoren.

zeugen sogar neben anderen Stoffen erhebliche Mengen von Glyzerin oder Mannit (§ 106 u. 124).

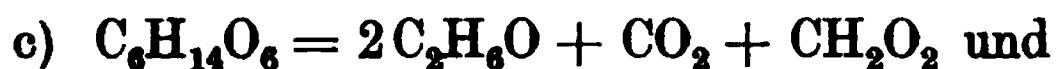
Es fragt sich jetzt, wie wir uns die Vergärung der höheren Alkohole zu denken haben. Die früheren Untersucher, namentlich *Frankland* und seine Mitarbeiter, haben geglaubt, verwickelte Umsetzungsgleichungen aufstellen zu können. So soll das Mannit durch den *Bac. pneumoniae* zerfallen nach der Formel



derselbe Stoff durch den *Bac. ethaceticus*, unter der früher schon erwähnten Annahme, daß die Gase hauptsächlich dem Zerfall der Ameisensäure entstammen (S. 320), wie folgt:



Schließlich werden für die Vergärung des Dulzits durch den *Bac. ethacetosuccinicus* unter derselben Voraussetzung 2 Gleichungen aufgestellt:

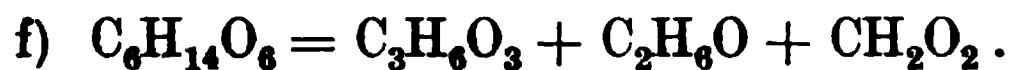


Nimmt man c zweimal und d einmal, so erhält man eine der gesamten Umsetzung entsprechende Gleichung.

Harden hat später für die Vergärung des Mannits durch den *Bac. coli* eine ebenso einfache Formel angegeben, wie für die des Traubenzuckers: auch hier sollen 2 Moleküle zusammentreten, wie wir es auf S. 294 dargestellt haben, ohne daß aber eine Beteiligung von Wasser nötig wäre. Die Produkte sind auch die gleichen bis auf die Essigsäure, die hier durch Alkohol ersetzt ist:



Nebenbei bemerkt, nimmt auch *Harden* an, daß die Gase aus der Zersetzung der Ameisensäure hervorgehen. Setzt man die betreffende Formel in e ein und teilt durch 2, so erhält man eine einfache Gleichung:



Ebenso einfach wäre nach *Harden* die Vergärung des Glyzerins durch den *B. coli*:

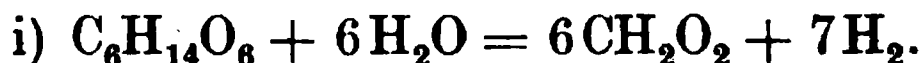


Wir können nur wiederholen, was wir bei Gelegenheit der Zuckersetzungen (§ 98 u. 103 ff.) über dergleichen verwickelte Gärungsgleichungen gesagt haben: sie geben vielleicht die Befunde ziemlich genau wieder bei dem einen oder anderen Versuch, reichen aber

nicht einmal für alle Versuche mit einem und demselben Bakterium aus, weil das Mengenverhältnis, in dem die einzelnen Gärerzeugnisse zueinander stehen, zu erheblich schwankt. Wir sind daher geneigt, um dieser Mannigfaltigkeit der Analysen gerecht zu werden, auch hier die einzelnen Gärprodukte unabhängig voneinander entstehen zu lassen, müssen allerdings zugeben, daß die Formeln für die milchsaure, essigsaure, alkoholische und Wasserstoffgärung der Zuckeralkohole nicht so einfach lauten können, wie für die des Zuckers selbst. Das zeigt sich bei jedem Versuch, die bekannten Formeln dem höheren Wasserstoffgehalt der Alkohole entsprechend umzuformen. Die Gleichung der „Wasserstoffgärung“ zeigt verhältnismäßig die geringsten Änderungen, sie würde z. B. lauten für den Mannit und isomere Alkohole

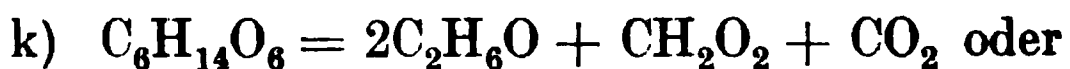


unterschiede sich also nur durch den größeren Wasserstoffüberschuß von der Gleichung 6 in § 98. Dafür, daß sie die Verhältnisse richtig wiedergibt, spricht der von manchen Forschern, namentlich von Frankland gemachte reichlichere Befund von Wasserstoff bei der Mannit- und Dulzitvergärung. Indessen haben wir gesehen, daß gerade die Formel der Wasserstoffgärung am wenigsten sicher gestützt ist (§ 105). Nehmen wir freilich statt ihrer die Gleichung der „Ameisensäuregärung“, so würde sie sich auch noch in einfacher Weise umgestalten lassen:



Die Gleichungen für die milchsaure und essigsaure Gärung ergäben dagegen niemals ein einziges Produkt, wie bei dem Zerfall der Zucker, sondern stets entweder neben der Säure freien Wasserstoff, oder mindestens einen anderen durch Reduktion entstehenden Stoff¹⁾. Wir unterlassen es hier, solche Formeln aufzustellen, weil sie bisher nicht genügend durch Beobachtungen gestützt werden. Ähnliches gilt für die alkoholische Gärung²⁾ der Zuckeralkohole. Immerhin hätten wir hier bei der Glycerinvergärung in der obigen Gleichung einen möglichst einfachen Ersatz.

Schon bei der alkoholischen Mannitvergärung würden wir aber statt zweierlei Produkte drei erwarten müssen, etwa wie folgt:



1) Z. B. Propionsäure, Alkohol und Methylalkohol (s. u.).

2) Nach Müntz (Annal. chim. phys. 5. sér. 8) soll bei der „intramolekularen Atmung“ der Pilze in der Tat aus Mannit neben Alkohol und Kohlensäure Wasserstoff entstehen, aus Zucker nicht. Die Gleichung k_1 bestände also zu recht.

Vielleicht verdienen diese Gleichungen aber doch den Vorzug vor den aus H a r d e n s Analysen abgeleiteten obigen Gleichungen e und f.

Auch die Bernsteinsäure kann aus den Zuckeralkoholen nur durch eine verwickelte Umsetzung entstehen (vgl. Gleichung d), wenn man nicht etwa den bisher nur ausnahmsweise beobachteten Methylalkohol (s. u.) dafür heranziehen wollte:



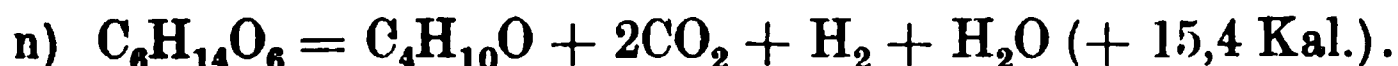
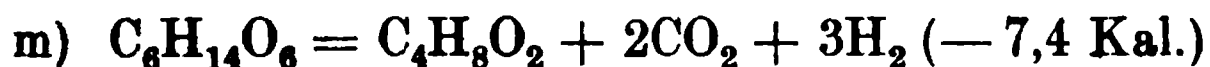
Vorläufig erscheint es uns aussichtslos, genaueres feststellen zu wollen. Dazu reichen die vorhandenen Untersuchungen nicht aus. Wir machen aber auch hier auf die besondere Schwierigkeit aufmerksam, die sich für die Erklärung der Gärungen der Typhus- und Ruhrbazillen ergeben (S. 318 u. 333).

Die höheren Alkohole sind auch der B u t t e r s ä u r e - und B u t y l a l k o h o l g ä r u n g unterworfen. Die Untersuchungen von F i t z stammen freilich aus einer Zeit, die noch keine Gewähr für Reinkulturen übernehmen konnte. Am meisten Vertrauen erweckt seine Beschreibung des Bac. butylicus¹⁾, der nicht nur Rohrzucker, sondern auch Mannit und Glyzerin zu Buttersäure, Butylalkohol, etwas Milchsäure und Spuren von Buttersäure vergärt. Es wurden gebildet aus

	100 g Traubenzucker	100 g Mannit	100 g Glyzerin
Butylalkohol	0,5	10,2	8,1
Buttersäure	42,5	35,4	17,4
Milchsäure	0,3	0,4	1,7
Bernsteinsäure	Spur	0,01	—
Trimethylenglykol	—	—	3,4
	43,3	46,0	30,6

Die dabei entwickelten Gase wurden nicht analysiert.

Buttersäure und Butylalkohol entstehen vielleicht aus Mannit nach den Gleichungen (vgl. S. 368):



Der Trimethylenglykol $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ könnte vielleicht durch Reduktion mittelst des Gärungswasserstoffs aus Glyzerin entstehen.

Der von E m m e r l i n g ²⁾ in Reinkulturen studierte Bazillus aus Heu hat große Ähnlichkeit mit dem Bac. butylicus von F i t z. Der

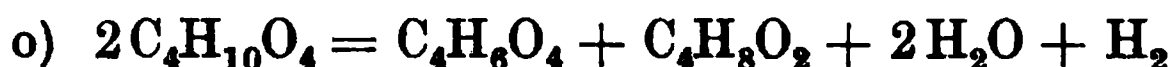
1) Ber. chem. Ges. 1876. 1348; 1877, 276; 1878. 42 und namentlich 1882. 878.

2) Ebenda 1897. 241.

Bac. boocopricus *Emmerlings* (S. 316) zeichnet sich dagegen durch ein seltenes Gärprodukt aus, den *Methylalkohol*, den er neben Essigsäure und Buttersäure aus Glyzerin bildet (s. o.). Auf Zuckernährböden verursachte er eine gemischte Milchsäuregärung. In jedem Falle ist die Gärung recht schwach, vom Glyzerin wird z. B. kaum 10% angegriffen. Dadurch und durch seine sonstigen Eigenschaften nähert er sich den Heubazillen.

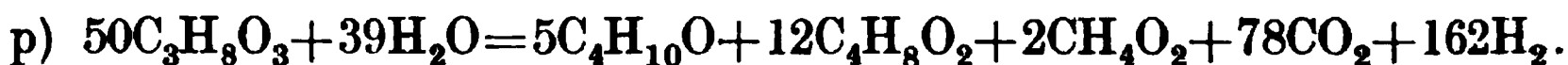
Einer ziemlich reinen Buttersäuregärung unterliegen nach *Fitz*¹⁾ auch der Dulzit und die beiden Ringalkohole der hydroaromatischen Kohlenwasserstoffe *Inosit* und *Querzit* von der Formel $C_6H_{12}O_6$ und $C_6H_{12}O_5$.

Der *Erythrit* kann nach demselben Autor in doppelter Weise vergären: erstens zu Buttersäure und Essigsäure²⁾ mit Beimengungen von Ameisensäure, Bernsteinsäure und Alkohol, zweitens zu Buttersäure und Bernsteinsäure³⁾ mit Spuren von Essig- und Kapronsäure. Letztere Gärung soll nach der Gleichung:

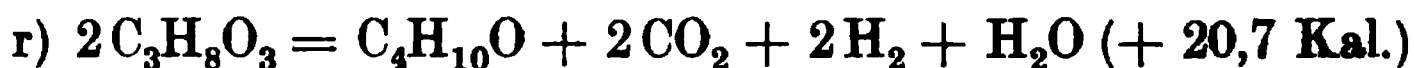
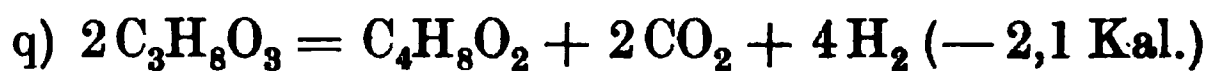


verlaufen. Die Erreger dieser Zersetzungen sind nicht näher bekannt, da nach *Fitz* sich niemand mit ihnen beschäftigt hat.

Der *Bac. orthobutylicus* *Grimberts* (vgl. S. 368) vergärt Mannit und Glyzerin etwas weniger leicht wie die Zucker, bildet aber daraus ähnliche Produkte. Die letztere Gärung erfolgt nach der empirischen Formel:



Es findet dabei also eine *Synthese der Buttersäure und des Butylalkohols* aus dem Glyzerin statt, vielleicht nach den Gleichungen



wozu dann noch die Gleichung der Essigsäure- und Wasserstoffgärung (s. o.) hinzukämen. Der vieratomige Alkohol *Erythrit* wird nach *Grimbert* nicht vergoren.

Diese Formeln würden vielleicht auch Gültigkeit besitzen für Gärungen, die durch andere Buttersäurebazillen hervorgerufen werden, z. B. den *Amylobacter butylicus* *Duclox*⁴⁾, der nicht nur alle möglichen Kohlehydrate, sondern auch Mannit und Glyzerin vergärt

1) Ber. chem. Ges. 1878. 45.

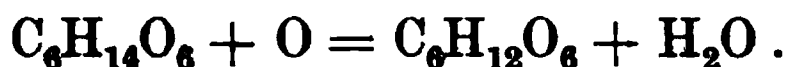
2) Ebenda 1878. 474.

3) Ebenda 1878. 1890.

4) Annal. Pasteur 1895. 811.

und dabei wechselnde Mengen der gleichen Stoffe wie der *Bac. orthobutylicus* erzeugt. Glyzerin soll dabei freilich keine wesentlichen Mengen von Gas entwickeln.

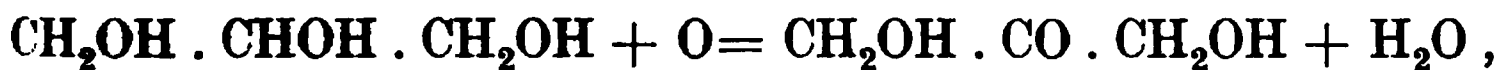
§ 132. Oxydationen der höheren Alkohole. Sorbosegärung. Die meisten zum Leben an der Luft befähigten Mikroorganismen, die Zucker zu verbrennen vermögen, oxydieren auch die verwandten Alkohole entweder vollständig zu Kohlensäure und Wasserstoff oder zu einem Zwischenprodukt wie Oxalsäure und Glyzerose. *D u c l a u x* hat das im besonderen für Schimmelpilze (S. 390), *P é r é* für Heubazillen (S. 394) nachgewiesen. Aber auch die Bakterien, deren oxydierende Kraft nicht eine so energische oder besser gesagt tiefgehende ist, wie z. B. die Essigbakterien, die den Zucker gewöhnlich nur bis zur ersten Oxydationsstufe, der Glykon- oder Glykuronsäure verbrennen (§ 120), greifen die Alkohole in ähnlich beschränkter Weise an. So oxydiert nach *B r o w n* ¹⁾ das *Bact. aceti* den Mannit zu *F r u k t o s e* nach der Formel



Das *Bact. Pastorianum* ist nach *S e i f e r t* ²⁾ dazu nicht imstande. Ebensowenig wird nach *G. B e r t r a n d* (s. u.) der Dulzit und Sorbit oxydiert, und zwar durch keins der beiden Bakterien. Auch Glyzerin verhält sich ähnlich, während der *G l y k o l* nach *S e i f e r t* zu Glykolsäure oxydiert wird:



Sehr interessant ist die oxydierende Wirkung eines dritten Essigsäurebakteriums, des *B a c t. x y l i n u m*, die *B e r t r a n d* ³⁾ gründlich studiert hat. Der zweiwertige Glykol, der fünfwertige Xylit und sechswertige Dulzit wird nicht von ihm angegriffen, wohl aber *G l y z e r i n* (dreiwertig), *E r y t h r i t* (vierwertig), *A r a b i t* (fünfwertig), *S o r b i t*, *M a n n i t*, *P e r s e i t* (sechswertig) und *V o l e m i t* (siebenwertig). Alle diese Körper werden umgewandelt in die verwandten Ketonzucker, so das Glyzerin in das *D i o x y a z e t o n*



das sich von der Glyzerose (S. 394), einem anderen Oxydationsprodukte des Glyzerins, bloß durch seine Konfiguration unterscheidet. Ebenso wird der Mannit zu Fruktose, der Sorbit zu Sorbose. Die s c h e i n b a r e U n r e g e l m ä ß i g k e i t in dem Verhalten der einzelnen

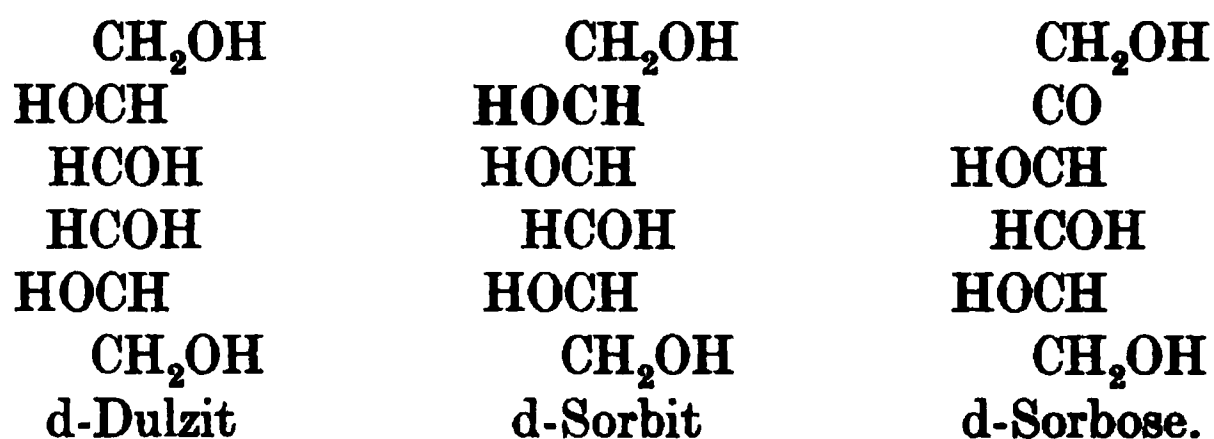
1) Journ. chem. soc. 1886. 172 und 432.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 3. 337.

3) Compt. rend. ac. sc. 126. 762, 842 u. 984; 127. 124 u. 729, vgl. auch Annal. Chim. Phys. (8). 3. 181, 1904.

Alkohole läßt sich nach Bertrand auf die Regel zurückführen, daß diejenigen von ihnen allein durch das Bact. xylinum angegriffen werden, die in ihrer Konfigurationsformel eine Gruppe CHOH enthalten, deren Hydroxyl auf derselben Seite des Moleküls kein Wasserstoffatom zum Nachbar hat.

So bleibt der Dulzit z. B. unverändert, der Sorbit wird oxydiert:



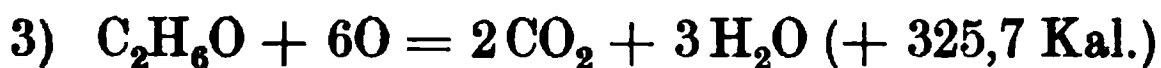
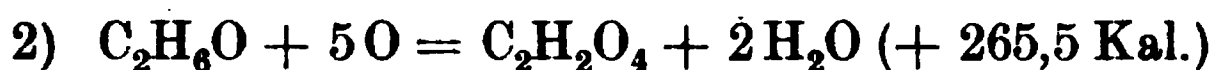
Die Bildung von Sorbose erfolgt in natürlichen Flüssigkeiten, die Sorbit enthalten, in charakteristischer Weise, so daß man von einer „Sorbosegärung“ gesprochen hat¹⁾. Wenn man Saft von Vogelbeeren (*Sorbus aucuparia*) stehen läßt, so tritt durch Entwicklung von Hefe alkoholische Gärung ein, in deren Verlauf der Traubenzucker aus dem Saft verschwindet. Dann siedelt sich auf der Oberfläche Kahlhefe (*Mycoderma cerevisiae*) an, die den Alkohol und Extraktstoffe zerstört. Auf die Kahlhefe folgt Schimmel (*Penicillium glaucum*), der das Zerstörungswerk vollendet, aber wie seine Vorgänger den im Saft ursprünglich enthaltenen Sorbit unberührt läßt. Jetzt erst entwickelt sich das „Sorbosebakterium“, das Bact. xylinum, und überzieht die Oberfläche mit einer dicken Gallerte, die schließlich vertrocknet und grünlich wird. Es ist nicht ursprünglich im Saft vorhanden gewesen, sondern wird durch Essigfliegen (*Drosophila funebris*), die mehrere Generationen in dem Saft durchmachen, hineingebracht. Aus dem Sorbit bildet sich neben Sorbose noch in großen Mengen die Gallerte, die, wie wir schon S. 80 und 415 gesehen haben, aus Zellulose (oder Chitin S. 84) besteht. Also folgt hier der Oxydation vielleicht eine Synthese. Auch Kirschen- und Birnensaft kann die Sorbosegärung durchmachen.

Dasjenige Essigbakterium, das sich den Zuckerarten gegenüber am vielseitigsten erwiesen hat (S. 387), das Bact. industrium Henneberts, ist es auch gegenüber den Alkoholen: es oxydiert neben Mannit auch Glyzerin nicht nur zu Zucker, sondern noch weiter zu Säuren, deren Wesen der Verfasser allerdings nicht festgestellt hat.

§ 133. Umwandlungen der einwertigen Alkohole. Die einwertigen Alkohole der Fettsäurereihe kommen in frischen pflanzlichen

1) Bertrand, Compt. rend. ac. sc. 122. 900 und Annal. Pasteur 1898.

und tierischen Stoffen höchstens in Spuren vor. Nicht selten werden sie aber, wie wir gesehen, durch intramolekulare Atmung derselben (S. 246) und ferner durch Mikroorganismen erzeugt, und zwar bei weitem am häufigsten der Äthylalkohol (§ 84 ff., § 104), seltener der Butylalkohol (§ 115), ausnahmsweise auch Methyl- (S. 424), Propyl- (S. 371), Amylalkohol (S. 372). Abgesehen von ihrem chemischen Bau sind sie schon deswegen zur Ernährung der Mikroorganismen weniger geeignet, weil sie giftig wirken können. Allerdings tritt dieser schädliche Einfluß erst bei gewisser Konzentration zutage, in genügender Verdünnung sind alle diese Alkohole auch Nährstoffe. Ohne weiteres verständlich ist ihre Verwertung im Betriebsstoffwechsel; sie dienen bei Sauerstoffzutritt als vorzügliches Brennmaterial. So kann Äthylalkohol entweder zu Essig- oder Oxal- oder Kohlensäure und Wasser verbrannt werden:



Diese Oxydationen kommen in der Tat häufig vor und verlaufen, wie obige Zahlen zeigen, mit gewaltiger Wärmeentwicklung.

Spaltungsprozesse wären auch denkbar, sind aber noch nicht beobachtet worden.

Synthesen aus den Alkoholen kommen vor, denn manche Mikroorganismen können allein aus ihnen ihre Lebenssubstanz aufbauen. Sie werden aber wohl durch die oxydierten Zwischenstufen hindurch erfolgen. Wie sie übrigens vor sich gehen, ist gänzlich unbekannt. In Betracht kommen für unsere Darstellung also nur die O x y d a t i o n e n.

§ 134. **Verbrennung der Alkohole.** Die meisten bei Sauerstoffzutritt wachsenden Mikroorganismen können wohl die Alkohole verbrennen, ebenso wie es die höheren Organismen tun. Die Voraussetzung ist nur, daß sie ihnen in der nötigen, d. h. nicht schädlichen Verdünnung dargeboten werden. D u c l a u x ¹⁾ hat z. B. gefunden, daß *Aspergillus niger* die niederen Alkohole sämtlich zu Oxalsäure und Kohlensäure (s. o. Gleichung 2 und 3) oxydiert. Nach L a u r e n t ²⁾ ist die Bierhefe dazu nicht imstande. Es ist ja auch sonst bekannt, daß sie den Alkohol, den sie durch Gärung aus dem Zucker erzeugt hat, nicht anrührt. Wohl vermögen das der überhaupt sehr vielseitige Schimmelpilz *Eurotiosis Gayoni* nach L a b o r d e ³⁾ und

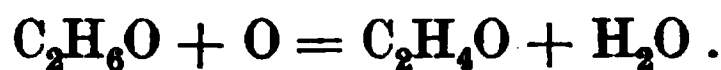
1) Annal. Pasteur 1889. 109.

2) Ebenda 114.

3) Annal. Pasteur 1897, vgl. M a z é ebenda 1904.

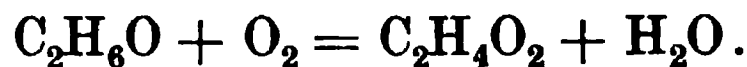
einige Kahlmhefen nach Beijerinck¹⁾ und Lafar²⁾. D u c l a u x hat bei der Oxydation des Alkohols die Essigsäure stets vermißt, sie dient hier also wohl nicht als Zwischenstufe der Oxydation. Das ist dagegen bei Mycoderma manchmal (Lafar) und bei den Essigbakterien, zu denen wir gleich kommen, regelmäßig der Fall. Die meisten von ihnen können nur den Äthylalkohol oxydieren, einige, z. B. das *B. oxydans* und *acetosum* Hennebergs³⁾, aber auch Methyl-, Propyl-, Butyl-, Isobutyl- und selbst Amylalkohol (Seifert⁴⁾). Es entstehen dabei die entsprechenden Säuren, Ameisen-, Propion-, Buttersäure usw.

Ad. Mayer⁵⁾ hat bei der Oxydation des Äthylalkohols durch Kahlmhefen nicht Essigsäure, aber Azetaldehyd, wenn auch nur spurenweise, beobachtet. Vor der vollständigen Verbrennung tritt dieser Körper offenbar als Zwischenstufe auf:



§ 135. **Aërobe Essigsäuregärung.** Die Verwandlung des Äthylalkohols zu Essigsäure wird gewöhnlich als Essigsäuregärung bezeichnet. Wir nennen sie die aërobe, im Gegensatz zu der anaëroben, die wir bei den Spaltungsprozessen der Kohlehydrate kennen gelernt haben (§ 103).

Die Essiggärung ist einer der am längsten bekannten natürlichen Zersetzungsprozesse. Ihr verfallen alle alkoholischen Flüssigkeiten, indem sie sich mit einer zähen Haut, der sogenannten *Essigmutter*, überziehen. Daß der Zutritt von Luft dazu nötig ist, merkte man bald, aber erst der Entdecker des Sauerstoffs, Lavoisier⁶⁾, erkannte die ausschlaggebende Rolle des letzteren. Eine Möglichkeit, die Umwandlung des Alkohols zu erklären, wurde gegeben durch die Beobachtung Davys (1821) und Döbereiners⁷⁾, daß Platinmohr die Oxydation vermittele. Letzterer Autor stellte schon die Gleichung der Reaktion fest, die in unserer heutigen Formelsprache lautet:



Berzelius⁸⁾ und namentlich Liebig⁹⁾ betrachteten die Essig-

1) Zentr. Bakt. 11. 68. Wahrscheinlich gehören diese Kahlmhefen nicht, wie Beijerinck meint, zu den *Sacch. mycoderma*, der allerdings auch Alkohol verzehrt, aber ihn nicht produzieren kann (S. 248).

2) Ebenda 13. 684.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 3. 223 und 4. 14.

4) Ebenda 3. 337.

5) Poggendorffs Annal. 142. 293, 1871.

6) Traité de chim. 2. éd. 1. 159, 1793.

7) Schweigers Journal 1823.

8) Traité de chim. Bd. 6. 1829.

9) Annal. Chem. u. Pharm. 29, 1839 und 153. 144.

mutter als einen Katalysator, der dem Platinschwarz vergleichbar wäre. Inzwischen hatte allerdings schon P e r s o n ¹⁾ 1822 die Zusammensetzung der Essigmutter und anderer „Kahmhäute“ aus Pilzen behauptet, und K ü t z i n g ²⁾ 1837 die Essigbakterien genau geschildert und auch ihrer Lebenstätigkeit die Gärung zugeschrieben. Erst P a s t e u r ³⁾ hat aber auch hier wieder die entscheidenden Beweise geliefert und der neuen Theorie zum Siege verholfen. Auch er glaubte freilich noch, an der Vorstellung festhalten zu können, die Essigmutter verdichte und übertrage den Sauerstoff ähnlich wie das Platinmohr. Ad. M a y e r und v. K n i e r i e m ⁴⁾ zerstörten diese gewissermaßen mechanische Ansicht gründlich, indem sie nachwiesen, daß t o t e Kahmhäute oder ähnlich poröses Material wie Fließpapier sich unfähig zeigen, Essiggärung zu bewirken, und daß überhaupt die Essigbildung durch Platinmohr und Essigbakterien unter ganz verschiedenen Bedingungen (Temperatur und Alkoholkonzentration) erfolge. Man nahm deshalb seitdem meist an, daß die Essiggärung in ähnlicher Weise als „Lebensäußerung“ der Essigbakterien zu betrachten sei, wie die Alkoholgärung als solche der Hefe. Die Entdeckung der Zymase durch E. B u c h n e r hat auch dieser Ansicht den Todesstoß versetzt. B u c h n e r selbst konnte im Verein mit Meisenheimer⁵⁾ und Gaunt⁶⁾ zeigen, daß die Essigsäure durch ein Enzym, eine Alkohol-„Oxydase“, besser wohl einfach „Alkoholase“ (Stoklasas „Azetolase“), aus dem Alkohol entstehe. Das gleiche Enzym oxydiert auch Propylalkohol zu Propionsäure.

Wie bei der Herstellung der Dauerhefe (S. 255) wurden Bieressigbakterien, die auf Würze (mit 4% Alkohol und 1% Essigsäure) als Haut (nicht in Reinkultur) gewachsen waren, durch Azeton abgetötet, mit Sand und Kieselguhr verrieben und mit 4 prozentigem Alkohol unter Zufügung von kohlensaurem Kalk und Toluol versetzt. Drei Tage lang wurde durch die Mischung von 120 ccm Flüssigkeit und 8,7 g Daueressigbakterien bei 30° Luft durchgepreßt und nachher die Essigsäure bestimmt. 0,4 g fast reine Säure waren nachweisbar. Je nach der Herstellung der Bakterien und des Präparats schwankt die Säuremenge, woraus sich auch die geringe Ausbeute, die R o t h e n b a c h und E b e r l e i n ⁷⁾ erhalten haben, erklärt. Am größten waren die Säuremengen, wenn die Bazillen vor der Azetonbehandlung getrocknet waren. Der Preßsaft der frischen Bakterien ist unwirksam (vgl. Milchsäurezymase § 101).

Die K o c h s c h e Methode der Reinkultur lehrte auch die Essigbakterien isolieren und ihre Eigenschaften näher studieren. Verdienste

1) *Mycologia europaea* 1. 96. Erlangen 1822.

2) *Journ. prakt. Chem.* 11. 385.

3) *Compt. rend. ac. sc.* 54. 265. und *Etudes sur le vinaigre*, 1868.

4) *Landwirtsch. Versuchsstation.* 16. 305, 1873.

5) *Ber. chem. Ges.* 1903. 637.

6) *Annal. Chem.* 349, 1906.

7) *K o c h s Jahresber.* 1905. 518.

darum erworben haben sich Chr. E. H a n s e n ¹⁾ und seine Nachfolger. Wir unterscheiden jetzt eine ganze Reihe von Essigbakterien, unter denen die wichtigsten Bact. aceti, Pasteurianum, xylinum, induratum schon öfter von uns genannt sind. Nach L a f a r ²⁾ soll es auch eine Kahlhefe geben, die Essiggärung bewirkt. Gemeinsam ist allen Essigbakterien die Fähigkeit, Äthylalkohol zu Essigsäure zu oxydieren. Schon N ä g e l i hat aber darauf aufmerksam gemacht, daß neben der Essigsäure regelmäßig Spuren von Kohlensäure entstehen, also der Alkohol teilweise bis zu Ende verbrannt wird. Diese Verbrennung tritt regelmäßig ein, wenn die Essigbakterien nicht genügend Alkohol zur Verfügung haben; dann greifen sie nämlich auch die von ihnen selbst gebildete Essigsäure an und oxydieren sie zu Kohlensäure und Wasser (L a f a r ³⁾).

Die N e b e n p r o d u k t e der Essiggärung sind bisher wenig studiert worden. Nach H o y e r ⁴⁾ wären darunter Bernsteinsäure und Azetaldehyd. Das „Aroma“ stammt wohl wesentlich nicht aus dem Äthylalkohol, sondern den übrigen Stoffen des Gärmaterials, z. B. des Weins. Es wird schließlich durch die Essigbakterien selbst zerstört, wenn man ihr Wachstum nicht früher unterbricht.

Bedingungen für das Fortschreiten der Essiggärung sind genügender Sauerstoffzutritt, mittlere Temperatur, saure Reaktion des Nährbodens und mittlere Konzentration des Alkohols.

Der S a u e r s t o f f v e r b r a u c h der Essigbakterien ist sehr bedeutend. D u c l a u x ⁵⁾ berechnet aus P a s t e u r s Versuchsergebnissen, daß die Bakterien auf der Höhe der Gärung binnen 36 Stunden das 165- oder gar das 500 fache ihres Körpergewichts an Sauerstoff verzehren, d. h. also das 300—1000 fache von Essigsäure erzeugen. Die W ä r m e e n t w i c k l u n g muß nach dem, was wir oben (S. 427) gesehen, eine ganz gewaltige sein und ist tatsächlich auch in den Essigfabriken sehr zu spüren.

Die günstigste Temperatur für die Essiggärung ist etwa 30—35°, bei 40° steht sie schon still. Dadurch unterscheidet sich der Prozeß der Essigsäurebildung durch Platinmohr, der um so schneller verläuft, je höher die Temperatur steigt. Auch bei niederen Temperaturen, z. B. 4—5°, sind manche Essigbakterien (B. aceti) noch imstande,

1) Vgl. H a n s e n , Zentr. Bakt. 2. Abt. 1, 1895; L a f a r ebenda; H e n n e b e r g ebenda 3 und 4; B e i j e r i n c k ebenda 4; H o y e r ebenda 4; Über Weinessigbakterien s. P e r o l d ebenda 24, 1909.

2) Zentr. Bakt. 13. 684.

3) Ebenda 2. Abt. 1 129, 1895.

4) Zeitschr. f. Essigindustrie 1899.

5) Mikrobiol. 4. 216

langsame Gärung zu erzeugen, andere (*Bact. Pasteurianum*) nicht (*L a f a r*).

Die s a u r e R e a k t i o n befördert die Essiggärung, wenn sie durch Essigsäure hervorgerufen ist, Mineralsäuren können schon in Mengen von 0,05 — 0,07% hinderlich sein¹⁾. Bei 4—5% Essigsäuregehalt steht die Gärung still. Wichtig ist die saure Reaktion auch deswegen, weil sie unter Verhältnissen, wo keine Reinkulturen ins Spiel kommen, die Überwucherung fremder Mikroorganismen verhindert. Nach *W u r m* ²⁾ erhält man bei 0,5—1,2% Essigsäure noch ein üppiges Wachstum der Kahlmhefe, und erst bei 2% wird diese völlig durch die Essigbakterien verdrängt. Übrigens gelten alle diese Zahlen nur für die gewöhnlichen Essigbakterien. Nach *H e n n e b e r g* ³⁾ wären die Säuremaxima für *Bact. industrium* nur 2,7%, für *Bact. ascendens* dagegen 9%.

Die günstigste K o n z e n t r a t i o n des A l k o h o l s liegt etwa bei 10%, die Grenze des Alkoholgehalts, bei der die Gärung aufhört, bei 14%. Auch hierin besteht ein Unterschied gegenüber der Essigsäurebildung durch Platinmohr, die ebenso gut in konzentriertem als verdünntem Alkohol vor sich geht.

Zum Gedeihen der Essigbakterien sind natürlich noch andere Stoffe, Salze und Stickstoff nötig, doch sind sie in dieser Beziehung viel weniger anspruchsvoll als z. B. die Milchsäurebakterien. Die alkoholischen Flüssigkeiten brauchen nur Spuren von anorganischen und Ammoniaksalzen zu enthalten. Begreiflich wird der geringe quantitative Bedarf, wenn man bedenkt, wie klein die Menge der während der Gärung neugebildeten Bakteriensubstanz ist (s. o.). Was die Kohlenstoffquelle anlangt, so unterscheidet *H o y e r* die „genetische“ und „zymotische“ Nahrung⁴⁾, je nachdem sie Wachstum oder Gärung ermöglicht. Traubenzucker dient z. B. ebenso dem Wachstum wie der Gärung (Glykonsäure-, nicht Essigsäuregärung S. 386), Alkohol nur der Gärung (eigentliche Essigsäuregärung); Essigsäure ist genetische Nahrung, weil auf ihre Kosten die Bakterien wachsen können, aber auch zymotische, denn die Verbrennung zu Kohlensäure und Wasser ist ebenso gut eine Gärung wie die des Alkohols zu Essigsäure. Nur pflegt die erstere im größeren Maßstabe erst einzutreten, wenn kein Alkohol mehr zur Verfügung steht. Wichtig ist die Beobachtung von *H o y e r*, daß O x y d a t i o n e n noch stattfinden können, wenn das Wachstum schon aufgehoben ist. Das würde auch für

1) *Hirschfeld*, *Kochs Jahresber.* 1890. 139. *Cohn ebenda* 140.

2) *Zit. nach Duclaux* 4. 203.

3) *Zeitschr. f. Essigindustrie* 1898.

4) *Vgl. dazu* S. 126.

eine Unabhängigkeit der Oxydation vom Wachstum, d. h. für eine Oxydasewirkung (s. o.) sprechen.

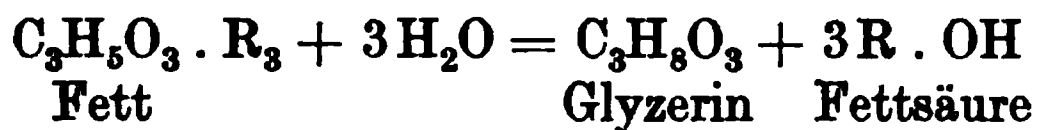
§ 136. **Gewerbliche Darstellung des Essigs.** Sie erfolgt nach zwei verschiedenen Verfahren. Das ältere *französische* oder nach der Stadt *Orléans* benannte besteht darin, daß in halbgefüllten Weinfässern, die oben durchlöchert sind und dadurch der Luft Zutritt gewähren, die alkoholische Flüssigkeit (Wein) unter Zusatz von Essig vergoren wird. Ist die Gärung einmal im Gang, so wird von Zeit zu Zeit fertiger Essig unten abgezogen und Wein oben zugegeben. Seit 1823 ist durch *Schützenbach* das sogenannte *deutsche* oder *Schnellessigverfahren* eingeführt worden, das auf dem Grundsatz beruht, den Alkohol möglichst vollständig mit der Luft in Berührung zu bringen. Die alkoholische Flüssigkeit rieselt dabei beständig über eine Schicht von Buchenholzspänen, die zwischen Sieben in einem Bottich so zusammengepackt liegen, daß sie der Luft überall Durchlaß gewähren. Beiden rein erfahrungsmäßig entwickelten Methoden haften manche Mängel an. Es läge nahe, sie durch ein wissenschaftliches Verfahren, das mit der in der Brauerei und Brennerei eingeführten Reinzuchtmethode vergleichbar wäre, zu ersetzen. Bisher sind aber dazu kaum Anfänge gemacht worden. Störungen des Betriebes kommen häufig vor. Ziemlich unschuldiger Natur scheinen allerdings die sogenannten *Essigälchen*, die häufig die Oberfläche der gärenden Flüssigkeit massenhaft bevölkern¹⁾. Nach *Pasteurs* Beobachtungen würden sie jedoch unter Umständen die Essigbildung behindern können, indem eine Art von „Kriegszustand“ zwischen ihnen und den Essigbakterien, der Essigmutter besteht. Soviel steht jedenfalls fest, daß die Älchen keineswegs nötig sind zu einer guten Essiggärung, wie man früher wohl angenommen hat.

§ 137. **Umwandlungen der Fette und Fettsäuren. Hydrolyse.** Fette und Fettsäuren sind weitverbreitete Stoffe, die den niederen Organismen wie den höheren zur Nahrung dienen. Dabei erleiden sie die mannigfachsten Umwandlungen: Hydrolysen, tiefere Spaltungen, Oxydationen und Synthesen. Bei den Fetten pflegt, wie bei den Poly- und Disacchariden, die Hydrolyse den weiteren Veränderungen voraufzugehen. Doch ist das bei beiden Gruppen von Körpern wohl keine allgemein gültige Regel. Daß die Prozesse sämtlich enzymatischer Natur sind, ist wahrscheinlich, aber nur für die hydrolytischen sicher bewiesen (vgl. § 138 u. S. 448).

Die Zerlegung der Fette in ihre beiden Bestandteile Glyzerin und

1) Vgl. über die Naturgeschichte der Essigälchen *Henneberg*. Deutsche Essigindustrie 1899—1900.

Fettsäure nach der folgenden Formel (in der R ein Fettsäureradikal bedeutet)



geschieht durch Mikroorganismen aller Art, wie Müller¹⁾, Gottstein²⁾, Krüger³⁾, von Sommaruga⁴⁾, H. Schmidt⁵⁾, Rubner⁶⁾, Schreiber⁷⁾, Reinmann⁸⁾, O. Jensen⁹⁾, Laxa¹⁰⁾, Spieckermann und Bremer¹¹⁾, Tissier und Martelly¹²⁾, Carrière¹³⁾, Eijkman¹⁴⁾, Achalmé¹⁵⁾, Rogers¹⁶⁾, Rahn¹⁷⁾, Huß¹⁸⁾ gefunden. Dazu gehören¹⁹⁾

Staphyl. pyogenes aureus¹⁴⁾

Micr. tetragenus⁴⁾, ⁷⁾

Bac. fluorescens liquefaciens⁷⁾ — ¹⁰⁾, ¹⁷⁾

Bac. prodigiosus⁹⁾, ¹⁴⁾

Bac. indicus¹⁴⁾

Bac. pyocyaneus⁴⁾, ¹⁴⁾

Bac. fluorescens non liquefaciens³⁾

Bac. lipolyticus aus Milch (Bactridium lipolyticum Huß¹⁸⁾)

Bac. tuberculosis¹³⁾

Anaërobe Bazillen³⁾, ¹²⁾ ? ¹⁵⁾

Spir. Finkler⁴⁾, ⁷⁾

Spir. cholerae⁴⁾, ¹³⁾ ? ¹⁴⁾

Spir. Metschnikoff ? ¹⁴⁾

Saccharomyces¹⁰⁾, Torula¹⁶⁾ ? ⁷⁾, ¹¹⁾

Aspergillus, Penicillium, Mucor, Oidiumarten⁶⁾ — ¹¹⁾, ¹⁷⁾.

1) Zeitschr. f. klin. Med. 21, 1887.

2) Berl. klin. Woch. 1887. 907.

3) Zentr. Bakt. 7. 87, 1890.

4) Zeitschr. f. Hyg. 18.

5) Ebenda 28.

6) Arch. f. Hyg. 38.

7) Ebenda 41.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 131.

9) Ebenda 8. 1—12.

10) Arch. f. Hyg. 41, 1902.

11) Landwirtsch. Jahrb. 1902.

12) Annal. Pasteur 1902.

13) Ref. Zentr. Bakt. 29. 953.

14) Zentr. Bakt. 29. 22.

15) Annal. Pasteur 1902 und 1903.

16) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 388, 1904.

17) Ebenda 15. 422.

18) Ebenda 20. 474.

19) Diejenigen Autoren, die nur über den Fettverbrauch der von ihnen geprüften Bakterien berichten, wie z. B. Escherich, sind hier natürlich nicht berücksichtigt (vgl. § 149).

Die in obiger Liste beigegefügtten Fragezeichen bezeichnen die Fälle, über die entgegengesetzte Angaben vorliegen. Diese Widersprüche erklären sich auf verschiedene Weise. Zunächst kommt es sicher vor, daß Bakterien die Fähigkeit, Fette zu spalten, mit der Zeit verlieren. Schreiber hat das selbst bei dem kräftig wirksamen *Bac. fluorescens liquefaciens* beobachtet. Auch die natürlichen Varietäten dieses Bazillus besitzen das Vermögen der Fettspaltung in sehr ungleichem Grade. Von größerer Bedeutung auf das Ergebnis ist freilich die Methode, deren man sich bedient, um die Hydrolyse der Fette nachzuweisen. Sommaruga verglich einfach die Säuremenge, die sich in den Nährböden mit und ohne Fettzusatz (2%) gebildet hatte und schloß aus der Zunahme der Säuerung auf Fettspaltung. Das ist ein etwas unsicheres Verfahren. Besser ist es, die Menge des neutralen Fettes und der freien Fettsäuren (oder Kalkseifen) getrennt für sich durch Ausziehen mit Äther zu bestimmen, wie Rubner, Schreiber u. a. getan haben. Dem bloßen Auge sichtbar machen kann man die Fettspaltung nach Eijkman, wenn man Rindertalg in dünner Schicht in Doppelschalen erstarren läßt und darauf den geimpften Nährboden ausgießt. Wo das Fett gespalten wird, trübt sich die Talgschicht durch Bildung von Kalkseife.

Auf eine Fehlerquelle hat Achalmé aufmerksam gemacht: durch sehr reichliche Ammoniakbildung kann auch eine Verseifung der Fette bewirkt werden. So soll sich die Fettspaltung erklären, die Tissier und Martelly bei Anaërobiern gefunden hatten.

Nach Rubner werden die Glyzeride sämtlicher Fettsäuren gleichmäßig angegriffen. Ein Zusatz von kohlensaurem Kalk zu den Nährböden begünstigt die Fettspaltung bei den Bakterien, weil er die schädliche Wirkung der im Wasser löslichen freien Fettsäuren aufhebt.

Ob der Sauerstoff einen Einfluß auf die Hydrolyse der Fette ausübt, ist unbekannt. Soviel ist aber sicher, daß es gerade strenge Aërobier, in erster Linie die Schimmelpilze sind, die sich am wirksamsten zeigen. Außerdem unterliegt es keinem Zweifel, daß die weitere Zersetzung der Fette und höheren Fettsäuren viel schneller oder vielmehr allein bei Sauerstoffzutritt — durch Oxydation — erfolgt. Nur die niederen Fettsäuren unterliegen anaëroben Spaltungen (s. u. § 139 ff.).

Unter natürlichen Verhältnissen spielt die Spaltung der Fette in den Abfallstoffen pflanzlichen und vor allem tierischen Ursprungs, die in den Boden gelangen, wie namentlich Rubner nachgewiesen hat, eine große Rolle. In den fetthaltigen Nahrungsmitteln begleitet sie der Prozeß des Ranzigwerdens (§ 150).

§ 138. **Lipasen.** Die fettspaltende Wirkung tierischer Enzyme, z. B. des Pankreas, ist schon lange bekannt. In jüngster Zeit wurde dann nachgewiesen, daß in allen möglichen Organen, im Blut usw. derartige Enzyme vorkommen. Gérard¹⁾ und Camus²⁾ stellten zuerst aus *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* eine „Lipase“ dar. Biffen³⁾ verrieb das Myzel eines auf Kokosnüssen lebenden Pilzes mit Kieselguhr und gewann daraus einen Preßsaft, der sowohl Kokosöl als Monobutyryl (Buttersäureglyzerid) spaltete und dessen wirksamer Bestandteil durch Alkohol gefällt werden konnte. Ein solches Enzym will auch Carrière⁴⁾ in *Tuberkelbazillen* nachgewiesen haben: eine 6 Monate alte Kultur gab mit Monobutyryl verrieben saure Reaktion, wenn sie erhitzt war, nicht mehr. Spieckermann und Bremer zerrieben Kulturen von *Aspergillus flavus* und *repens* mit Glasperlen und zogen sie dann mit Glyzerinwasser aus. Der Auszug spaltete Butyryl ziemlich kräftig, war aber auf Baumwollenöl ohne Wirkung. Laxa war glücklicher, ihm gelang es, nicht nur Monobutyryl, sondern auch Butterfett durch einen aus den Leibern von *Penicillium* und *Mucor* (nicht aus Oidien) gewonnenen Saft zu spalten. Die Sterilisierung der Fettenzymmischungen durch Antiseptika ließ freilich etwas zu wünschen übrig.

In einer *Torula* hefe versuchte Rogers die Bildung eines lipolytischen Enzyms dadurch nachzuweisen, daß er die einen Monat alte Kultur in zwei Hälften teilte, dann die eine 10 Minuten lang auf 80° erhitzte, beide mit Formaldehyd im Verhältnis von 1 : 1500 mischte und im Wasserbade erhitztes Fett zusetzte. Eine Säurebestimmung, die nach 71 Tagen vorgenommen wurde, zeigte in der nicht erhitzten Hälfte eine starke Säuerung, in der erhitzten nur eine ganz geringe. Beide waren steril. Das Ergebnis spricht anscheinend dafür, daß diese Hefe eine Lipase bildet. Zucker vergärt sie nicht. Daß auch der gewöhnliche Hefepreßsaft ein fettspaltendes Enzym enthalte, wird angenommen, ohne daß der sichere Beweis bisher erbracht wäre (S. 263).

Auf ähnliche Weise bestätigte übrigens Rogers die schon von Marfan und Gillet und Spolverini gefundene Tatsache, daß in der frischen Milch ein fettspaltendes Enzym enthalten ist. Eine erhitzte Probe frischer Milch gab mit sterilem Butterfett keine Säure, eine nur mit Formaldehyd versetzte Probe wohl, obgleich beide Proben sich als „fast steril“ erwiesen.

1) Compt. rend. ac. sc. 124. 370, 1897.

2) Compt. rend. soc. biol. 1897, 192 und 230.

3) Ann. of botany 1899.

4) Lit. in § 137.

Auch bei der Autolyse der Bakterien wie bei den höheren Zellen scheinen Lipasen neben anderen Enzymen (§ 166) wirksam zu sein. So glaubt *P f e r s d o r f f*¹⁾ ein solches in autolysierten Milzbrandbazillen nachgewiesen zu haben, da nach Zusatz einer Ölemulsion Säure gebildet wurde.

§ 139. **Spaltungsgärungen der Fettsäuren.** Wie schon oben bemerkt, scheinen nur die niederen Fettsäuren bei Sauerstoffabschluß einer tieferen Spaltung durch Mikroorganismen zu unterliegen²⁾, und zwar sind vergärbare die beiden ersten Säuren der Fettsäurereihe, d. h. Ameisensäure und Essigsäure, ferner die (vierte) Buttersäure, nicht die Propion- und Valeriansäure; von den Oxyfettsäuren vergärt verhältnismäßig leicht die Milchsäure, nur schwer die Glykolsäure, von den Dioxyfettsäuren allein die Glyzerinsäure, von den zwei- und dreibasischen Säuren nur sehr schwer die Oxalsäure, Bernsteinsäure und Methylbernsteinsäure (Brenzweinsäure), leicht dagegen die Oxy- und Dioxybernsteinsäure (Äpfel- und Weinsäure), von den dreibasischen Säuren die Zitronensäure, von den Tetraoxysäuren die Glykuron-, Zucker- und Schleimsäure. Die Säuren mit mehr als 2 Kohlenstoffatomen werden also nur dann leicht zersetzt, wenn sie außer dem Karboxyl noch eine oder mehrere Hydroxylgruppen enthalten. Die Spaltungsprodukte sind teilweise komplizierter gebaut als die vergorenen Körper, werden also daraus durch eine Synthese gebildet, so entsteht aus der Milchsäure Buttersäure und Valeriansäure, wie wir früher gesehen haben, daß aus Glyzerin Butter- oder Bernsteinsäure hervorgeht. Die meisten dieser Gärungen sind von *H o p p e - S e y l e r* und *F i t z* in einer Zeit studiert worden, wo man noch keine Reinkulturen anzulegen verstand. Daher verdienten ihre Angaben in weiterem Umfange, als bisher geschehen, nachgeprüft zu werden. Neuerdings haben *J e n s e n* und *B a h r*³⁾ die Vergärung der Zitronen-, Bernstein-, Äpfel-, Glukose-, Zucker-, Schleim- und Traubensäure benutzt, um die Mitglieder der Paratyphusgruppe (S. 344) voneinander zu trennen. Genauere Angaben über die Art dieser Zersetzungen fehlen aber.

1) Zeitschr. f. Tiermediz. 8, 1904.

2) Wie die Bildung flüchtiger Fettsäuren (Propion- und Buttersäure), die der *Bac. acidophilus* des Säuglingsstuhls nach *Salge* und *Neuberg* (Jahrb. f. Kinderheilkunde 59. 412, 1904) in zuckerhaltigen Nährböden mit höheren Fettsäuren (0,1% oleinsaures Natron) bewirkt, vor sich geht, müßte noch festgestellt werden. Es wäre dabei an eine „innere“ Oxydation des Fettes durch Sauerstoff aus anderer Nahrung zu denken.

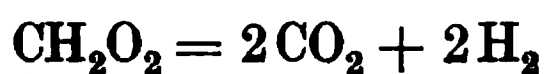
3) Zentr. Bakt. 39. 269, vgl. aber *T r o m m s d o r f*, Arch. f. Hyg. 55. 297.

§ 140. Vergärung der Ameisensäure. Ameisensaurer Kalk liefert nach H o p p e - S e y l e r ¹⁾ mit Schlamm versetzt kohlen-sauren Kalk, Kohlensäure und Sumpfgas. Fein verteiltes Rhodium oder Iridium haben eine ähnliche Wirkung. O m e l i a n s k y ²⁾ hat aus einer Lösung mit 2% Kalziumformiat und 0,2% Pepton, die er mit altem Mist geimpft hatte, ein *Bact. formicum* isolieren können, das auf Kalziumformiatagar verkreidete Kolonien bildet, auf allen Nährböden zum Wachstum zu bringen ist und auch ohne Sauerstoffzutritt gedeiht und Formiat vergärt³⁾.

Die Gärung des Natriumformiats erfolgt nach der Formel:



Es wird also doppelt so viel, nicht gleich viel Wasserstoff als Kohlen-säure gebildet, weil die Hälfte der Kohlensäure, die man nach der Gleichung III (S. 333)



erwarten sollte, im kohlen-sauren Salz erscheint. Andere Fettsäuren werden von dem *Bact. formicum* nicht angegriffen, dagegen Glykose, Galaktose, Laktose, Maltose, Mannit und Arabinose in kräftige Milch- und Bernsteinsäuregärung versetzt. Auch der Methylalkohol bleibt unberührt, der Bazillus ist also von dem *Bac. methylicus* L ö w s ⁴⁾, der außer dem ameisensauren Natron auch Methylalkohol assimiliert (S. 116), verschieden.

Die Fähigkeit, die Ameisensäure in der obigen Weise zu vergären, ist nach P a k e s und J o l l y m a n ⁵⁾ weit verbreitet, z. B. dem *B. coli*, *pneumoniae*, *enteritidis* eigentümlich. Diese Autoren bemerken, daß bei gleichzeitiger Anwesenheit von Zucker das Formiat die Vergärung des Zuckers begünstigt, weil das kohlen-saure Alkali die aus dem letzteren entstehenden Säuren bindet. Ist nebeneinander Natriumformiat und Natriumnitrat (1%) vorhanden, so wird kein Gas entwickelt, sondern neben Natriumbikarbonat Nitrit gebildet. Bei einem Überschuß des Formiats wird Kohlensäure und Stickstoff frei. Der Sauerstoff der Salpetersäure vermag also den Wasserstoff der Ameisensäure zu oxydieren, nicht der freie Sauerstoff. Ein energischer Vergärer der

1) Zeitschr. physiol. Chem. 11. 561.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 6—11, 1903.

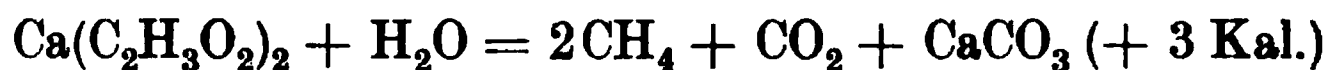
3) Nach O m e l i a n s k y allerdings nur, wenn das Substrat Bouillon enthält, nicht in Pepton-Formiatnährböden. Doch tritt auch hier Gärung ein, wenn die Kultur eine Zeitlang bei Sauerstoffzutritt gewachsen ist. Die Sache scheint nicht ganz klar.

4) Zentr. Bakt. 12. 462.

5) Journ. chem. soc. und Proceed. chem. soc. 1901 (Kochs Jahresber.)

Ameisensäure ist ferner nach **F r a n z e n** und **B r a u n**¹⁾ der *Proteus vulgaris*. Danach macht es vorläufig den Eindruck, als ob gerade die Gasbildner unter den zuckervergärenden Bakterien auch die Fähigkeit besitzen, die Ameisensäure zu spalten, während die nicht gasbildenden Typhus- und Ruhrbazillen dazu nicht imstande seien. Nimmt man noch den Umstand hinzu, daß die letzteren viel Ameisensäure aus Zucker erzeugen, die ersteren nur wenig, so scheinen diese Tatsachen die Vermutung von **F r a n k l a n d** und **H a r d e n** zu bestätigen, daß die Ameisensäure ein regelmäßiges Zwischenprodukt der Zuckerspaltung in diesen Fällen und ihre eigene Spaltung die wesentliche Quelle der Gasbildung aus dem Zucker, d. h. der sog. Wasserstoffgärung des Zuckers (§ 105) darstelle. Indessen fehlt, wie wir a. a. O. sahen, noch viel an dem sicheren Beweise dieser Annahme. Noch gar nicht festgestellt ist übrigens, wie sich die strengen Anaerobier, bei denen die Wasserstoffgärung des Zuckers ebenfalls eine große Rolle spielt (§ 114, 115, 117), zur Ameisensäure verhalten.

§ 141. **Sumpfgasgärung der Essigsäure.** Auch diese ist von **Hoppe-Seyler** erzielt worden durch Zusatz von Schlamm zu einer Lösung von essigsaurem Kalk. Die Essigsäure wird ohne Nebenprodukte vergoren zu Sumpfgas und Kohlensäure nach der Gleichung:



oder, was dasselbe ist: $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 = \text{CH}_4 + \text{CO}_2$.

Neuerdings ist diese Gärung wieder von **M a z é** und **O m e l i a n s k y**²⁾ studiert worden. Die chemischen Befunde waren die gleichen. Vor allem scheint an dieser Zersetzung ebenso wie an der ähnlichen der Buttersäure (§ 145) eine „Pseudosarzine“ beteiligt zu sein (vgl. S. 379).

Sehr verbreitet ist die Fähigkeit zur Essigvergärung wohl nicht, denn sonst würde bei den zahlreichen Mischgärungen, bei denen Essigsäure entsteht, häufiger Sumpfgas nachgewiesen sein. Nur ausnahmsweise wird davon berichtet. So soll nach **B a g i n s k y**³⁾ bei der Spaltung der Stärke durch den *Bac. aërogenes* neben Essigsäure auch eine Spur CH_4 und bei der Buttersäuregärung nach **v. K l e c k i**⁴⁾ ebenfalls Sumpfgas auftreten. Auch das bei der Fäulnis der Eiweißstoffe entstehende Sumpfgas geht vielleicht aus einer nachträglichen Spaltung der Essigsäure hervor (§ 168, 179).

1) Biochem. Zeitschr. 8, ref. in Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 156.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 679.

3) Zeitschr. physiol. Chem. 12.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 169.

§ 142. **Vergärung der Milchsäure.** Die Milchsäure entsteht, wie wir § 99 u. 114 gesehen, sehr häufig bei der Spaltung der Kohlenhydrate, scheint aber nur selten von den Bakterien, die sie erzeugen, anaërob weiter zersetzt zu werden. Nach *B a g i n s k y* (s. o.) soll zwar der *B a c. a ë r o g e n e s* aus milchsauren Salzen wesentlich Buttersäure bilden, vielleicht nach der Formel, die wir weiter unten betrachten werden. Derselbe Forscher gibt aber als Gärungsprodukt aus Zucker hauptsächlich Essigsäure und sehr wenig Milchsäure, keine Buttersäure an. Auch kein anderer Forscher hat bisher Buttersäure bei der Vergärung der Kohlenhydrate durch *Bac. aërogenes*, und zwar auch nicht durch milchsäurebildende Stämme, auftreten sehen. Der dem *Bac. aërogenes* nahestehende *A c t i n o b a c t e r D u c l a u x*¹⁾ vergärt überhaupt die Milchsäure nicht unter anaëroben Bedingungen, sondern oxydiert sie nur bei Sauerstoffzutritt zu Kohlensäure und Wasser. Ähnliches scheint auch von anderen Milchsäurebakterien nach *K a y s e r* (S. 313) und vom *B. coli* nach den Mitteilungen *P é r é s*²⁾ zu gelten. Der *Amylobacter butylicus D u c l a u x*³⁾ bildet zwar bei Sauerstoffabschluß aus Milchsäure Buttersäure und wenig Essigsäure, dieselben Stoffe, die er aus Kohlehydraten erzeugt. Da im letzteren Falle aber die Milchsäure gänzlich fehlt, hat man keinen rechten Grund anzunehmen, daß sie ein *Z w i s c h e n p r o d u k t* der Gärung darstelle. Bei einem anderen Buttersäurebakterium, und zwar dem *Rauschbrandbazillus*, ist man eher zu dieser Annahme berechtigt. Wir haben schon S. 313 gesehen, daß eine Varietät desselben nach *S c h a t t e n f r o h* und *G r a ß b e r g e r* den Zucker fast ausschließlich zu Milchsäure spaltet, eine zweite aber wenigstens unter Umständen die Milchsäure weiter zu Buttersäure vergärt. Die übrigen Erreger der Buttersäuregärung in kohlehydrathaltigen Nährböden sollen nach den Angaben der meisten Forscher, denen sich *G r a ß b e r g e r* und *S c h a t t e n f r o h* anschließen, die Milchsäure, die sie vielfach bilden, nicht weiter vergären. Dem widerspricht aber neuerdings *B r e d e m a n n*⁴⁾ in seiner großen Arbeit über die beweglichen Buttersäurebazillen (*Bac. amylobacter* vgl. S. 354 ff.). Zunächst will er schon aus dem Umstand, daß die gleichen Erdproben, die Zucker vergoren, auch Laktat angriffen und unter dem Mikroskop die selben Bakterien zu enthalten schienen, auf das Vermögen der echten Buttersäurebakterien, Laktat zu vergären, schließen. Nach *B r e d e m a n n*

1) Microbiol. 14. 140.

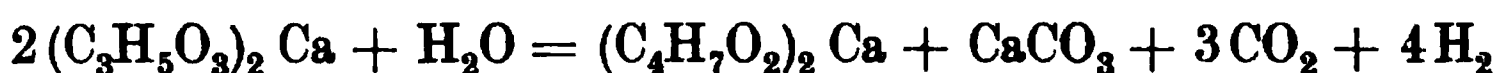
2) Annal. Pasteur 1892 und 1893. Auch nach *H a r d e n* vermag der *Bac. coli* Milchsäure nicht zu vergären (S. 293).

3) Annal. Pasteur 1895.

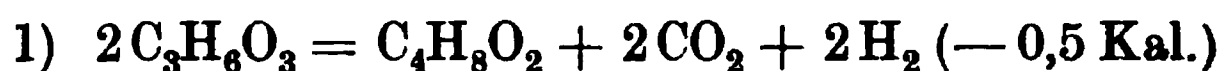
4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 471, 1909 vgl. S. 000.

soll es aber auch oft mit Hilfe von Reinkulturen, besonders nach reichlicher Einsaat, gelingen, den Widerstand des Kalziumlaktats gegen die Gärung, der manchmal unleugbar besteht, zu brechen. Welches die Bedingungen dafür sind, scheint uns der näheren Untersuchung wert zu sein. Schon seit lange nicht zu bezweifeln ist dagegen, daß es Bakterien gibt, die den Buttersäurebakterien morphologisch ähnlich sind und Kalziumlaktat, und zwar anscheinend sogar dies allein, nicht den Zucker zu Buttersäure vergären.

Die Vergärung von milchsaurem Kalzium durch „Vibrionen“ zu Buttersäure ist nämlich schon von P a s t e u r ¹⁾ beobachtet und als Muster eines anaëroben Vorgangs hingestellt worden. F i t z ²⁾ fand sie durch Impfung von Laktat mit Kuhkot wieder, allerdings erhielt er keine sehr lebhafte Gärung; so gewann er einmal aus 500 g Laktat neben 34 g buttersaurem Kalk noch 3,6 g Äthyl- und Butylalkohol, ein anderes Mal außer Buttersäure Spuren von Kapron-, Essig- und Bernsteinsäure. Vernachlässigt man diese Beimischungen, so würde die Gärung der Gleichung



oder, was auf dasselbe herauskommt, der Reaktion



entsprechen.

Das *Granulobacter lactobutyricum* B e i j e r i n c k s ³⁾, den dieser Forscher mit dem erwähnten Buttersäureferment P a s t e u r s identifiziert, ist dadurch bemerkenswert, daß er sehr leicht seine Fähigkeit, ohne Luftzutritt zu wachsen, Buttersäuregärung zu erzeugen und mit Jod die Stärkereaktion zu geben, verlieren und dann dem bekannten H e u b a z i l l u s (*B. subtilis*) ähneln soll. Anfangs sei diese aërobe Varietät noch imstande, das Kalziumlaktat zu Karbonat zu verbrennen; nach einigen Überimpfungen höre aber das Wachstum sowohl der aëroben als anaëroben Form ohne ersichtlichen Grund auf. Diese Angaben bedürfen dringend der Bestätigung. Sie erinnern daran, daß von verschiedenen anderen Forschern den weit verbreiteten und als Verunreinigungen sehr gefürchteten Heu- und Kartoffelbazillen das Vermögen, Milchsäure zu Buttersäure zu vergären, zugeschrieben worden ist (H ü p p e, L ö f f l e r S. 350 u. 351). Im allgemeinen gehören diese Bakterien zu den s t r e n g e n A ë r o b i e r n, man wird

1) Compt. rend. ac. sc. 52, 1861. Études sur la bière, 1876, S. 282.

2) Ber. chem. Ges. 1878. 51; 1880. 1309.

3) Verhand. akad. Wetensch. Amsterdam 2. Sect. I, 1893, Nr. 10, so genannt im Gegensatz zu dem *Gran. saccharobutyricum* vgl. § 113.

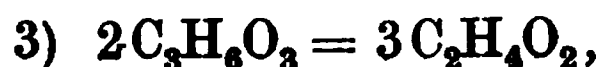
also von ihnen wohl eher Oxydationen, als Spaltungsgärungen erwarten dürfen (S. 395 u. § 149).

Doch gibt es unzweifelhaft einzelne Varietäten oder Arten unter ihnen, die auch ohne Luftzutritt gedeihen (F l ü g g e). Außerdem ist die Möglichkeit nicht aus den Augen zu lassen, daß selbst die strengen Aërobier ähnlich den Hefepilzen zeitweise anaërob wachsen und gerade dabei Gärungen erzeugen könnten. Unter allen Umständen wird man wohl daran festhalten müssen, daß die Bildung der Buttersäure aus Milchsäure, ob sie nun nach der obigen Formel oder auf anderem Wege geschieht, eine S p a l t u n g i s t, die ohne Eingreifen des Luftsauerstoffs erfolgt. Wenn, wie es wohl geschehen ist, der Einwand gemacht wird, daß diese Spaltung gar nicht als eigentliche Gärung zu betrachten sei, sondern zum Stoffwechsel der Zelle gehöre, weil sie nur in geringem Umfange und langsam vor sich gehe, so haben wir schon öfter hervorgehoben, daß diese Scheidung von Stoffwechsel und Gärung eine willkürliche ist. Die Schwierigkeit, in diesen Dingen ganz klar zu sehen, wird übrigens dadurch vermehrt, daß die Buttersäure auch der Spaltung von stickstoffhaltigen Körpern entstammen kann (§ 168 ff.). Nach F i t z kann der milchsaure Kalk aber noch auf andere Weise gespalten werden. So fand er nicht selten¹⁾ eine P r o p i o n s ä u r e g ä r u n g, die streng nach der Gleichung



verlief. Nebenprodukte sind hier nur Essigsäure und Kohlensäure, wie bei der Propionsäuregärung der Äpfel- und Weinsäure (§ 146 u. 147).

In anderen Fällen war das Hauptprodukt der Gärung B a l d r i a n - s ä u r e²⁾ $C_5H_{10}O_2$, der andere flüchtige Säuren (Propionsäure) und Alkohol beigemischt waren. Ferner kommt auch die Baldriansäure mit der Propionsäuregärung zusammen vor. — Diese Gärungen sind nach F i t z lange nicht mehr studiert worden, erst v. F r e u d e n r e i c h und O. J e n s e n³⁾ haben durch den reichlichen Befund von Propionsäure im Schweizerkäse aufmerksam gemacht, die Umwandlungen der milchsauren Salze durch Käsebakterien näher untersucht und dabei Bakterien gefunden, die daraus Propionsäure und Essigsäure bilden. Fixe Säuren und Wasserstoff fehlen dabei, die Kohlensäure wurde nicht gemessen. Das Verhältnis der Propionsäure und Essigsäure schwankt: bald entspricht es der F i t z s c h e n Gleichung, bald entsteht mehr Essigsäure, wohl nach der Gleichung



1) Ber. chem. Ges. 1878. 479. 1898 und 1880. 1309.

2) Ebenda 1880. 1309.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 528, 1906.

bald aber auch mehr Propionsäure. Die Bildung beider Säuren scheint also doch in gewisser Weise unabhängig voneinander zu sein. In der Tat kann man auch die Propionsäure herleiten nach der Formel:



Die Propionsäurebakterien ähneln merkwürdigerweise sehr den beiden Haupttypen der Milchsäurebakterien, nämlich das *Bact. acidi propionici* dem *Strept. lacticus* und der *Bac. acidi propionici* den langen Milchsäurebazillen (§ 97). Sie sollen übrigens auch den Milchzucker selbst zu Essig- und Propionsäure zersetzen (§ 109). Die Angabe bei v. F r e u d e n r e i c h und J e n s e n , daß auch echte Milchsäurebakterien die Milchsäure zu Essigsäure vergären, stimmt nicht mit anderen Angaben (§ 103). Wo eine solche Umsetzung erfolgt, wird man wohl gewöhnlich einen Einfluß des Luftsauerstoffs annehmen dürfen. Über die Bedeutung der Propionsäurebakterien für die Lochbildung im Käse vgl. § 178.

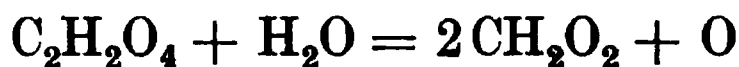
Schließlich ist von H o p p e - S e y l e r ¹⁾ auch S u m p f g a s als Erzeugnis der Milchsäuregärung gefunden worden. Wahrscheinlich stammt es aus der Essigsäure (§ 141).

Nicht unwichtig ist es, daß bisher eine alkoholische Vergärung der Milchsäure nach der einfachen Formel: $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 = \text{C}_2\text{H}_6\text{O} + \text{CO}_2$ nicht bekannt geworden ist, obwohl man sie doch voraussetzen müßte, wenn die Annahme²⁾ Buchners richtig wäre, daß die Milchsäure das regelmäßige Zwischenprodukt der alkoholischen Vergärung des Zuckers sei (S. 252).

§ 143. Vergärung der Glykolsäure, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Brenzweinsäure. Darüber liegen nur sehr spärliche Mitteilungen vor. Im allgemeinen bleiben diese Säuren von anaëroben Spaltungen unberührt, während sie der Oxydation leichter verfallen.

F i t z ³⁾ gelang es trotz aller Bemühungen nicht, den glykolsauren Kalk in Gärung zu versetzen. Glücklicher war H o p p e - S e y l e r ⁴⁾. Fäulnisbakterien erzeugen nach ihm aus $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_3$ Kohlensäure, Wasserstoff und S u m p f g a s.

Nach B é c h a m p ⁵⁾ soll oxalsaurer Kalk durch ein unbekanntes Bakterium in Ameisensäure verwandelt werden. Man könnte sich vorstellen, daß der Prozeß unter dem Einfluß von Wasser wie folgt verläuft:



1) Zeitschr. phys. Chem. 11. 566, 1887.

2) Neuerdings hat B u c h n e r diese Ansicht zurückgezogen (Verh. Gesellsch. D. Naturf. u. Ärzte, Salzburg 1909. II. 1. 51).

3) Ber. chem. Ges. 1878. 46.

4) Zeitschr. physiol. Chem. 2, 7.

5) Compt. rend. 70. 999.

wobei Oxydationen nebenher gehen würden. Derselbe Forscher sah **Bernsteinsäure** durch faules Fleisch in **Propionsäure** und **Kohlensäure** zerfallen:



Auffälligerweise wird dabei Wärme gebunden. Nach **Grimbert** und **Firquet** (s. u. § 147) soll der *Bac. tartricus* aus **Bernsteinsäure** **Essigsäure** abspalten. Auch die **Aminobernsteinsäure** wird ähnlich zersetzt (§ 169).

Die **Methylbernstein-** oder **Brenzweinsäure** wird nach **Béchamp**¹⁾ durch **Fleischwasser** zu **Kohlensäure** und **Sumpfgas** vergoren.

§ 144. **Vergärung der Glyzerinsäure.** **Fitz**²⁾ beobachtete zwei verschiedene Gärungen des glyzerinsauren Kalks bei Impfungen seiner Lösung mit Heuwaschwasser. Entweder bildete sich vorwiegend **Essigsäure** mit **Alkohol**, **Butter-**, **Ameisen-** und **Bernsteinsäure** als Nebenprodukten. Der Zerfall würde dann vielleicht im wesentlichen so vor sich gehen:



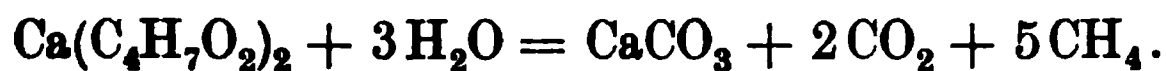
Oder es wurde fast reine **Ameisensäure** und nur Spuren von **Alkohol** und **Essigsäure** entwickelt.

Frankland und **Frew**³⁾ konnten durch die Reinkulturen ihres *Bac. ethaceticus* die erste Gärung wieder erzeugen. Sie gaben ihr die Formel:



Dabei machten die englischen Forscher die Beobachtung, daß das optisch inaktive Salz, das sie der Gärung unterworfen hatten, in die beiden aktiven Modifikationen verwandelt wurde, von denen nur das rechtsdrehende Salz der Spaltung verfiel (vgl. § 58). Später⁴⁾ machte sich eine Anpassungserscheinung bemerkbar: der lange Zeit in Lösungen von glyzerinsaurem Kalk gezüchtete *Bazillus* vergor allmählich auch die linksdrehende Komponente.

§ 145. **Sumpfgasgärung der Buttersäure.** Nach **Mazé** und **Omeliansky**⁵⁾ wird auch der buttersaure wie der essigsaure Kalk (§ 141) durch eine „**Pseudosarzine**“ zu **Sumpfgas** und **Kohlensäure** vergoren, und zwar wahrscheinlich nach der Formel



1) Bull. soc. chim. 11. 418, zit. nach **Emmerling**.

2) Ber. chem. Ges. 1878. 474 und 1880, 1312.

3) Journ. chem. soc. 1891 (**Kochs** Jahresber.).

4) Ebenda 1893.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 680.

§ 146. **Vergärung der Äpfelsäure.** Der äpfelsaure (oxybernsteinsaure) Kalk ist nach *Fitz*¹⁾ ebenfalls verschiedenen Gärungen unterworfen. Zunächst kann er in Bernsteinsäure und Essigsäure zerfallen, genau der Gleichung entsprechend:



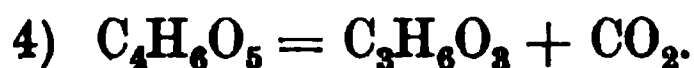
Bei einer anderen Gärung wurde viel Propionsäure, weniger Essigsäure und eine Spur Bernsteinsäure gebildet, etwa nach der Gleichung:



Drittens konnte die Äpfelsäure auch der Buttersäuregärung unterliegen



Eine Milchsäuregärung beschrieb *Schützenberger*²⁾. Die einfachste Gleichung dafür lautet:



Ob hier wirklich besondere Leistungen einzelner Mikroorganismen vorlagen oder Mischgärungen, ist unbekannt. Nur für den *Bac. aërogenes* hat *Emmerling*³⁾ nachgewiesen, daß er imstande ist, die Äpfelsäure ziemlich genau der Gleichung 1 entsprechend zu zersetzen.

§ 147. **Vergärung der Weinsäure.** Der weinsaure (dioxybernsteinsaure) Kalk liefert nach *Pasteur*⁴⁾ ein Beispiel streng anaërober Gärung, als deren Erreger er eine Art von „Vibrionen“ mit einer glänzenden Anschwellung an einem Pol, wie wir heute sagen würden, Bazillen mit Köpfchensporen, beschreibt. Schon früher war die Gärung anscheinend von *Dumas* beobachtet worden. *Fitz*⁵⁾ fand sie wieder und gab ihr wie *Pasteur* die Formel:



Es werden also *Propionsäure* und *Essigsäure* gebildet. Nach *Duclaux*⁶⁾ wird vielleicht die sog. „pousse du vin“, bei der ebenfalls die beiden Säuren erzeugt werden, durch diese Vergärung der Weinsäure hervorgerufen (vgl. *Laborde*, Mannitbildner im Wein § 124).

Bei einer zweiten Gärung entsteht in erster Linie *Essigsäure* mit geringen Mengen von *Alkohol* und *Buttersäure*. Man könnte ihr die Formel geben:



Aber auch der Zerfall zu *Essigsäure* und *Bernsteinsäure* scheint möglich.

1) Ber. chem. Ges. 1878. 479 u. 1896.

2) Die Gärungserscheinungen, 1876.

3) Ber. chem. Ges. 1899. 1915.

4) Compt. rend. ac. sc. 56. 416 und Études sur la bière 274.

5) Ber. chem. Ges. 1878. 474.

6) Microbiol. 4. 628.

Mit Reinkulturen ihres *Bac. tartricus* vergoren G r i m b e r t und F i r q u e t ¹⁾ den weinsauren Kalk zu Essigsäure, Bernsteinsäure, Kohlensäure und Wasserstoff. Die Bernsteinsäure erscheint hierbei nur als Übergangsprodukt, denn sie zerfällt weiter zu Essigsäure (s. o. § 143). Auch die Kohlenhydrate werden von diesem Bazillus angegriffen unter Bildung der gleichen Stoffe, wozu aber noch kommen Linksmilchsäure, etwas Äthylalkohol und Azetylmethylkarbinol $C_4H_8O_2$, ein Kupferlösung schon in der Kälte reduzierender Körper, der neben Alkohol im Destillat erscheint und sonst nur ausnahmsweise (S. 395) noch in Bakterienkulturen gefunden worden ist. Mannit und Glyzerin bleiben unberührt.

§ 148. Vergärung der Zitronensäure, Schleimsäure, Glykuronsäure. F i t z ²⁾ hat eine Gärung des zitronensauren Kalks beobachtet, bei der aus der Zitronensäure $C_6H_8O_7$ wesentlich Essigsäure neben etwas Alkohol und Bernsteinsäure entsteht.

Die Schleimsäure $C_6H_{10}O_8$ wird nach S c h ü t z e n b e r g e r (a. a. O.) leicht unter Bildung von Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff vergoren.

Die d-Glykuronsäure $C_6H_{10}O_7$ soll nach älteren Angaben nicht, nach H i l d e b r a n d t ³⁾ wohl durch Hefe und Zymin vergärbar sein, wobei aber an Stelle des Alkohols Essigsäure und unter Umständen Malonsäure $CH_2(CO_2H)_2$ entstehe; nach T h i e r f e l d e r ⁴⁾ wird sie durch Bakterien des Kloakenschlammes in eine Art S u m p f g a s - g ä r u n g versetzt. Die (im Harn vorkommenden) gepaarten Glykuronsäuren (mit glykosidischem Charakter) werden nach N e u b e r g und N e i m a n n ⁵⁾ durch Emulsin und Kefyrlaktase (§ 82) gespalten und verfallen nach H i l d e b r a n d t ebenfalls der Fäulnis. Außerdem bewirken die gewöhnlichen Fäulnisbakterien nach E. S a l k o w s k i und N e u b e r g ⁶⁾ bei schwach alkalischer Reaktion den Zerfall der Glykuronsäure in l-Xylose und Kohlensäure.

§ 149. Oxydation der Fette und Fettsäuren. Der gewöhnlichste Weg, auf dem die Fette durch die Mikroorganismen zersetzt, „verbraucht“ werden, scheint die Oxydation zu sein. Den Fettverbrauch verschiedener Mikroorganismen in Milch hat schon E s c h e r i c h ⁷⁾ seinem Grade nach bestimmt. Während die nicht mit Bakterien geimpfte Milch 1,340% Fett enthielt, ließen

1) Compt. rend. biol. 1897.

2) Ber. chem. Ges. 1878. 1895.

3) Zeitschr. physiol. Chem. 43, 1904 (und Hofmeisters Beitr. 7. 1905).

4) Ebenda 13, 1889.

5) Ebenda 44, 1905.

6) Ebenda 36, 1901.

7) Darmbakterien des Säuglings 1886 S. 115.

der <i>Bac. fluorescens non liquefaciens</i>	1,226%	Fett unzersetzt
„ <i>Strept. gracilis</i>	1,020%	„ „
die <i>Monilia candida</i>	0,968%	„ „
der <i>Micr. ovalis</i> (<i>Strept. lacticus</i> ?)	0,923%	„ „
der <i>Bac. subtilis</i>	0,855%	„ „
„ „ <i>aërogenes</i>	0,881%	„ „
„ „ <i>coli</i>	0,791%	„ „
„ „ <i>fluoresc. liquefaciens</i>	0,578%	„ „

Die freien Fettsäuren sind in dem Fett einbegriffen.

R u b n e r¹⁾ fand dann, daß reine Fette, die mit B o d e n - p r o b e n vermischt worden waren, zum größeren Teil hydrolytisch gespalten wurden, zum kleineren ganz verschwanden. Im sterilisierten Boden beobachtet man höchstens eine geringfügige Spaltung. Der Prozeß verläuft langsam im Laufe von Monaten und Jahren, er wird begünstigt durch das Vorhandensein von kohlensaurem Kalk im Boden. Auch in Flüssigkeiten findet eine solche Fettzehrung statt. Voraussetzung ist aber immer, daß neben den Fetten die übrigen Nährstoffe für das Wachstum von Mikroorganismen vorhanden sind. S c h r e i b e r²⁾ isolierte eine Reihe von Erregern der Fettzersetzung (*Penicillium glaucum*, *Mucor mucedo*, *Oidium albicans*, *Bac. fluorescens liquefaciens*, *Spir. Finkler*, *Micr. tetragenus*) und konstatierte, daß sie durchaus an den Z u t r i t t v o n S a u e r s t o f f gebunden ist. Die in der Gartenerde vorhandenen Anaëroben waren unfähig, das Fett anzugreifen, wenn man von einer unbedeutenden Spaltung absieht. Das in Futterstoffen wie Baumwollsaatmehl vorhandene Fett wird nach S p i e c k e r m a n n und B r e m e r (S. 433) bei einem geringen Wassergehalt (von 12 — 20%) fast ausschließlich durch Hefe („*Monilia*“-Arten) angegriffen und verfällt zum größten Teil der Verbrennung, während die gleichzeitig vorhandenen Kohlenhydrate und Eiweißstoffe fast unberührt bleiben. Steigt der Wassergehalt bis auf 30%, so werden Fette und Kohlehydrate zerstört, und zwar durch Schimmelpilze (Penicillien); Eiweißstoffe und Pentosane werden nur wenig in Anspruch genommen. Bei 30—50% Feuchtigkeit überwuchern Bakterien, die sich vor allem auf die stickstoffhaltigen Bestandteile und Kohlenhydrate werfen, auch die Pentosane nicht verschonen, aber verhältnismäßig wenig Fett verbrauchen. Es scheint danach, daß unter den Verhältnissen, wie man sie in der Natur gewöhnlich findet, die Fette in erster Linie durch Hefe und Schimmelpilze oxydiert werden. Versuche mit Reinkulturen haben S p i e c k e r m a n n und Bremer ergeben, daß

1) Vgl. Lit. S. 433.

2) — ebenda.

flüchtige Säuren als Zwischenerzeugnisse der Oxydation in greifbarer Menge nicht auftreten, sondern die Verbrennung wohl im wesentlichen eine vollständige ist. Oxalsäure wird freilich, nach den Untersuchungen von Duclaux und Wehmer (vgl. S. 390) zu urteilen, wenigstens zeitweise nicht fehlen. Nicht immer ging der Oxydation eine nachweisbare Spaltung der Fette vorher. Die freien Fettsäuren wurden energischer angegriffen als die Glyzeride. Wie man sich die Oxydation zu denken hat, ist nicht klar. Wahrscheinlich wird sie innerhalb der Zellen erfolgen. Die Aufnahme in letztere könnte dann, da die Reaktion regelmäßig eine saure ist, kaum anders als in Form einer Emulsion erfolgen. Fett oxydierende Enzyme sind bisher noch nicht nachgewiesen worden, aber wohl vorhanden (s. u.).

Die niederen Fettsäuren, sowie die Oxyfettsäuren und mehrbasischen Säuren, deren anaërobe Spaltungen wir soeben kennen gelernt haben, teilen das Schicksal der höheren, sie werden oxydiert, und zwar anscheinend viel leichter oxydiert, als sie ohne Sauerstoff gespalten werden. Darauf beruht zum größten Teil ihre Eigenschaft als mehr oder weniger gute Nährstoffe (vgl. § 33). Natürlich bestehen in dieser Beziehung je nach der Mikroorganismenart und der sonstigen Zusammensetzung der Nahrung große Unterschiede. Wenn andere bessere Nährstoffe zur Verfügung stehen, bleiben die Säuren häufig unberührt. So haben wir gesehen, daß von den Essigsäurebakterien zunächst immer der Alkohol oxydiert wird, erst wenn dieser verschwunden ist, die Essigsäure (S. 430), von den Schimmelpilzen zunächst der Zucker und später die Oxalsäure und Zitronensäure (§ 121 u. 122). Andere Fälle, wo diese Regel nicht zutrifft, vielmehr auch bei Gegenwart besserer Nährstoffe, z. B. Zucker, schlechtere, z. B. Essigsäure, verzehrt werden, haben wir § 58 besprochen. Dort haben wir auch die merkwürdige Auswahl kennen gelernt, welche die Mikroorganismen treffen, wenn ihnen gleich zusammengesetzte, aber in ihrem molekularen Aufbau abweichende Stoffe, wie die Rechts- und Linkswinsäure, Glyzerinsäure, Milchsäure gleichzeitig dargeboten werden. Ausschließlich oder vorwiegend die eine Komponente wird assimiliert und oxydiert, und zwar kann es je nach der Eigenart der Mikroorganismen bald die linksdrehende, bald die rechtsdrehende sein.

Eine damit zusammenhängende Tatsache haben neuerdings Herzog und Meier¹⁾ festgestellt. Sie fanden nämlich, daß *Penicillium* die razemischen Verbindungen Milch-, Trauben-, Äpfel-, β -Oxybutter-, Mandelsäure oxydiert, die Glykol-, Zitronen-, Brenztrauben-, Oxyiso-

1) Zeitschr. physiol. Chem. 57, 1908.

buttersäure kaum angreift, also erst ein asymmetrischer Kohlenstoff die Säuren zur Oxydation geeignet macht. Nebenbei erzielten die Verfasser ein wichtiges Ergebnis, indem sie das gepulverte Myzel auch nach Abtötung durch Azeton oder Methylalkohol wirken sahen. Sie sprechen daher von einem *Oxydationsenzym* (vgl. § 222).

In manchen Fällen sind Bakterien wohl imstande, unter Sauerstoffabschluß eine Säure zu erzeugen, vermögen sie aber erst an der Luft weiter zu zersetzen. So oxydiert das *Amylobacter butylicum* *Duc laux'* (S. 352) seine eigenen Produkte Essigsäure und Buttersäure nachträglich zu Kohlensäure und Wasser. An derartige Prozesse muß man immer denken, wenn man Gärungen studiert, ohne für sicheren Abschluß der Luft gesorgt zu haben. Die Analysen der Gärungsprodukte werden dann natürlich ein falsches Bild ergeben. Besonders groß ist die Gefahr, wenn durch Zusatz von kohlensaurem Kalk die durch die Gärung anaërob gebildeten Säuren abgestumpft werden und so die Lebensfähigkeit der Mikroorganismen länger erhalten bleibt.

Die „Säureverzehrung“ dieser und anderer (z. B. aromatischer) organischer Säuren spielt eine wichtige Rolle bei vielen verwickelten Zersetzungen, z. B. bei der *Verwesung*¹⁾ kohlehydrathaltiger Stoffe und des Eiweißes entstehen immer aus der Spaltung mit oder ohne Sauerstoffzutritt Säuren, die dann bei Sauerstoffzutritt beseitigt werden. Die einzelnen Stadien dieser Oxydation durch den freien Sauerstoff der Luft sind nur ungenügend bekannt. Man weiß nur, daß neben der Kohlensäure die Oxalsäure häufig auftritt (s. o.). Theoretisch bestände die Möglichkeit, daß aus jeder Fettsäure durch Oxydation nach und nach alle Fettsäuren mit geringerem Kohlenstoffgehalt hervorgingen. Allerdings kann sich auch durch eine intramolekulare Oxydation die nächst niedere aus der höheren Säure bilden, so z. B. die Valerian- aus der Kapronsäure bei der Fäulnis des Leuzins (§ 168).

Auch bei einem edleren Vorgang, dem *Reifen des Weins*, sehen wir eine Säureverzehrung (§ 95). Es handelt sich da wohl immer um ein Zusammenwirken verschiedener Mikroorganismen (Symbiose) oder vielmehr um deren gegenseitige Ablösung (Metabiose § 50).

Die Säureverzehrer sind fast in allen Fällen die Aërobier und Säureliebhaber ersten Ranges, d. h. Hefe und Schimmel²⁾. Bakterien greifen die Säuren im allgemeinen nur an, wenn sie nicht frei, sondern als

1) *Bail*, Zentr. Bakt. 2, Abt. 8. 18/19. *Heinze*, Zeitschr. f. Hyg. 46. 324; vgl. § 176 u. 182.

2) *Duc laux*, Annal. Pasteur 1889.

Salze gebunden erscheinen. Dann können sie sie, vorausgesetzt, daß ihnen Sauerstoff und andere, vor allem stickstoffhaltige Nahrung genug zur Verfügung steht, recht kräftig zerstören. Die einzelnen Säuren werden sehr ungleich angegriffen. Nach **M a a ß e n** ¹⁾ ergibt sich für die Zersetzlichkeit der organischen Säuren durch Bakterien folgende Reihenfolge (vgl. aber oben **H e r z o g** und **M e i e r**).

Von 45 verschiedenen Bakterienarten griffen die Säuren an:

Äpfelsäure	41 Arten	Propionsäure	13 Arten
Zitronensäure	38 „	Oxyessigsäure	13 „
Fumarsäure	38 „	Chinasäure	10 „
Glyzerinsäure	34 „	Maleinsäure	9 „
Bernsteinsäure	32 „	Malonsäure	8 „
Ameisensäure	30 „	Akonitsäure	7 „
Milchsäure	30 „	Trikarballylsäure	5 „
Schleimsäure	23 „	β -Oxybuttersäure	5 „
Weinsäure	21 „	Mandelsäure	4 „
Essigsäure	14 „	α -Oxyisobuttersäure	0 „
		Oxalsäure	0 „

Die Lösung, in der die Bakterien geprüft wurden, enthielt auf einen Liter 10 g Pepton, 1 g Chlornatrium, 1,5 g primären Kaliumphosphat, 0,3 g Magnesiasulfat und den zehnten Teil des Äquivalentgewichts der betreffenden Säure in Form ihres Kali- oder Natronsalzes. Neutrale Reaktion wurde durch Natronlauge hergestellt. Die Angaben sind natürlich nur für den angewandten Nährboden gültig. **M a a ß e n** macht selbst die Bemerkung, daß bei gewissen Veränderungen im Nährboden auch die Oxalsäure von manchen Bakterien angegriffen werde.

§ 150. **Das Ranzigwerden der Fette.** Die natürlichen Fettgemenge, die uns als Nahrungsmittel dienen, insbesondere die Butter, erleiden bekanntlich mit der Zeit eine eigentümliche Veränderung, die sich in dem „ranzigen“ Geruch und Geschmack kundgibt. **L i e b i g** ²⁾ schon führte diese Umwandlung auf beigemengte fermentartige Stoffe zurück, die Fettsäure in Freiheit setzten und Glyzerin zersetzten. Je reiner die Fette wären, desto weniger leicht würden sie ranzig. Andere Forscher schoben die allmähliche Oxydation des Fettes in den Vordergrund. Mit dem Beginn der bakteriologischen Zeit wurden auch Mikroorganismen für die Veränderung verantwortlich gemacht. Diese Lehre erhielt einen starken Stoß, als **D u c l a u x** ³⁾

1) Arb. K. Gesundheitsamts 12.

2) Handb. organ. Chem. 1843.

3) Annal. Pasteur 1888. 352 und Microbiol. 4731.

nachwies, daß die Fette allein unter der Einwirkung von Luft, Licht und Wärme der Zersetzung verfallen können. Nach ihm besteht das Ranzigwerden in einer hydrolytischen Spaltung — die vielleicht durch ein in der Butter vorhandenes, aus der Milch in sie übergegangenes Enzym (Lipase s. o. § 138) begünstigt werde — mit darauf folgenden durch Licht und Wärme gesteigerten Oxydationsvorgängen und weiteren Umsetzungen, an denen sich auch Mikroorganismen beteiligen könnten. Die Glyzeride der flüchtigen Fettsäuren, in erster Linie die Buttersäure, zerfallen besonders leicht und verflüchtigen sich schnell, woher es komme, daß die schon stark verdorbene Butter nur eine geringe Säurezunahme zeige. Alle späteren Forscher haben den bösen Einfluß, den die Belichtung durch die Sonne ausübt, bestätigen können. H. Schmidt¹⁾ wies auch nach, daß Mikroorganismenwirkung unter diesen Umständen nicht in Frage kommen kann, weil die Sonne die Butter nahezu sterilisiere. Doch macht neuerdings Reinmann²⁾ darauf aufmerksam, daß die Veränderung, die durch die Belichtung in der Butter eintritt, nicht gleichbedeutend sei mit dem Ranzigwerden. Der Geruch und Geschmack soll dabei „talig“ werden, nicht ranzig. Mag das nun der Fall sein oder nicht, der gewöhnliche Vorgang des Ranzigwerdens kann, wie aus den Arbeiten von Schmidt und Reinmann mit Sicherheit hervorgeht, nicht als einfache chemische Spaltung und Oxydation aufgefaßt werden, sondern beruht auf der verwickelten Tätigkeit von Mikroorganismen, und zwar hauptsächlich solchen, die den Sauerstoff lieben. Denn bei Abschluß der Luft wird die Butter viel langsamer ranzig. Die Belichtung hat, wenn sie nicht das übliche Maß überschreitet, keinen Einfluß. Höhere Temperatur befördert, niedrige Temperatur verlangsamt, Abkühlung unter Null verhindert das Ranzigwerden, wie alle Bakterienwirkungen. Denselben Erfolg hat der Zusatz von antiseptischen Stoffen, von größeren Mengen Kochsalz, das gründliche Auswaschen der Butter, das die Bakteriennährstoffe (Kasein, Milchzucker) beseitigt, die Herstellung der Butter aus sterilisiertem Rahm. Wird die auf solche Weise gewonnene keimfreie Butter mit einer Spur ranziger Butter gemischt, gewissermaßen „geimpft“, so wird sie sofort selbst ranzig. Macht man denselben Versuch mit Butter, die nachträglich durch Erhitzen keimfrei gemacht worden ist, so gelingt er nicht, die Butter wird nicht ranzig; aber nur aus dem Grunde, weil die erhitzte Butter sich scheidet in reines Butterfett, das den Bak-

1) Zeitschr. f. Hyg. 28 1898, mit Lit.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 5—7, 1900, (mit Lit.)

terien nicht allein zur Nahrung dienen kann. und die übrigen Bestandteile, die die nahrhaften Stoffe enthalten.

Bis hierher ist der Vorgang des Ranzigwerdens aufgeklärt. Leider wissen wir schon über die Art der Mikroorganismen, die ihn verursachen, nichts genaueres. **Reinmann** hat eine große Reihe von Bakterien, Hefen und Schimmelpilze, die er aus ranziger Butter gezüchtet, auf ihre Fähigkeit, Butter ranzig zu machen, ohne Erfolg geprüft. Nur drei von ihnen, der *Bac. fluorescens liquefaciens*, das *Oidium lactis* und eine Hefe spalteten die Butter unter Säuerung und teilweise unter Geschmacksveränderung, erzeugten aber nicht den ranzigen Geruch. Man muß also nach anderen Erregern des Prozesses suchen. Auch über die chemischen Vorgänge, die dabei stattfinden, ist man durchaus noch nicht einig. Wahrscheinlich werden sie auf die schon von **Liebig** hervorgehobenen Erscheinungen hinauslaufen. Der Versuch ist gemacht worden, die Zersetzungsprodukte aus ranziger Butter durch die Analyse zu erfassen. So hat **A. Schmid** ¹⁾ daraus durch Destillation Aldehyde und Ketone, **Amthor** ²⁾ Ester aus niederen Fettsäuren, namentlich Buttersäureäthylester gewonnen und für den Geruch verantwortlich gemacht. Die ersteren sollen aus der Zersetzung des Glyzerins, die letzteren aus der Vergärung des Milchezuckers zu Alkohol und der Spaltung der Glyzeride hervorgehen. Die Säuerung der Butter, die das Ranzigwerden stets begleitet, ist doch kein Gradmesser für den Vorgang. Sie hat wahrscheinlich zwei Ursachen, einerseits die Hydrolyse des Fettes, andererseits die Spaltung der Milch zu Milchsäure. Beide bedingen an sich noch nicht das Ranzigwerden. Ja, die Milchsäuregärung ist sogar ein Mittel, das Ranzigwerden der Butter zu verhindern. Es ist eine alte Erfahrung, daß **Butter**, die aus saurem Rahm hergestellt ist, dauerhafter ist als Süßrahmbutter. Man versetzt deswegen jetzt vielfach in Großbetrieben den durch Zentrifugieren frischer Milch gewonnenen Rahm mit Reinkulturen von Milchsäurebakterien und läßt ihn säuern, bevor man ihn zur Butter verarbeitet (vgl. § 111).

§ 151. **Reduktion von Fetten und Fettsäuren.** Bei den anaëroben Spaltungen der niederen Fettsäuren, Oxyfettsäuren usw. entstehen, wie wir sahen, neben höher oxydierten auch sauerstoffärmere oder sauerstofffreie Körper, z. B. bei der Vergärung der Essig-, Milch-, Glykol- und Bernsteinsäure Sumpfgas, Wasserstoff, Essigsäure, Propionsäure. Das in der Natur weit verbreitet vorkommende Sumpf- oder Grubengas wird zum großen Teil aus solchen Quellen stammen

1) Zeitschr. analyt. Chem. 1898. 277.

2) Ebenda 1899. 18.

(vgl. § 118). Aber auch andere Kohlenwasserstoffe können durch die Wirkung von Mikroben aus organischen Säuren entstehen, so bilden nach Oliviero sowie Herzog und Röpké¹⁾ *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* aus Zimtsäure durch Kohlensäureabspaltung Styrol $C_6H_5CH \cdot CH_2$, ganz in der Weise, wie aus Essigsäure durch Kohlensäureabspaltung Sumpfgas sich bildet. Man darf sich daher fragen, ob nicht die im Erdöl enthaltenen Kohlenwasserstoffe, die man gewöhnlich auf rein chemischem Wege (durch Destillation von Fettsäure unter Druck nach Engler) entstehen läßt, vielleicht ebenfalls Mikroorganismen ihren Ursprung verdanken²⁾. Die Tatsache, daß es Bakterien gibt, die Kohlenwasserstoffe zur Ernährung zu verwenden vermögen (S. 116), spricht nicht dagegen, denn auch Sumpfgas und Wasserstoff, die wir als echte Gärungserzeugnisse kennen, werden gelegentlich wieder assimiliert. Immerhin ist wohl die Entstehung des Erdöls auf rein chemischem Wege, wenn wir dessen Massenhaftigkeit bedenken, vorläufig wahrscheinlicher.

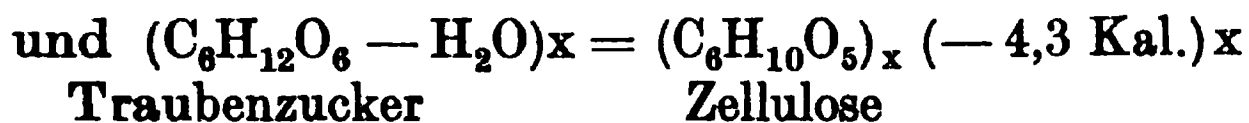
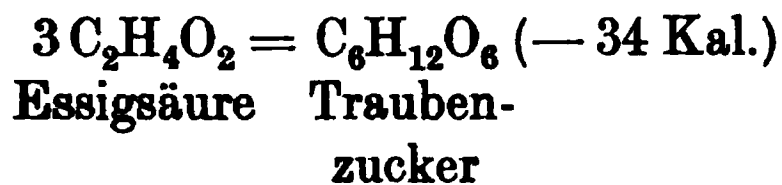
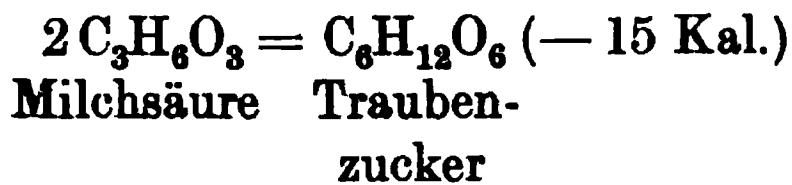
§ 152. **Synthesen aus Fettsäuren.** Daß die Fette und Fettsäuren zum Aufbau der Leibessubstanz dienen können, folgt aus der Tatsache, daß sie schon allein imstande sind, den Kohlenstoffbedarf vieler Mikroorganismen zu decken (S. 115 u. 116). Das wenige, was wir von den dazu nötigen Synthesen wissen, werden wir im Zusammenhang später (§ 229—231) besprechen. Hier sei nur bemerkt, daß wir den Vorgang der Fettbildung aus Fettsäure und Glyzerin wie den umgekehrten der hydrolytischen Fettspaltung wohl als enzymatischen auffassen dürfen. In der Tat hat Pottévin³⁾ durch Zusammenbringen von Oleinsäure mit Glyzerin Olein darstellen können. Einige andere in gewissem Sinne synthetische Vorgänge haben wir schon bei den Spaltungsgärungen erwähnt, so die Entstehung der Buttersäure und Baldriansäure aus Milchsäure (§ 142). Ihnen anzuschließen haben wir hier noch die schleimigen Gärungen, die bei ausschließlicher Ernährung mit niederen Fettsäuren entstehen können. Die meisten Bakterien können allerdings zur Bildung von Schleim nur Zucker verwenden. Einige, z. B. der *Bac. viscosus* I und II von van Laer (§ 129), bauen ihn aber auch aus Weinsäure und Milchsäure auf. In dieselbe Kategorie gehört das *Bact. xylinum*, das seine mächtigen lederartigen, wesentlich aus Zellulose bestehenden Gallertmassen auch

1) Zeitschr. physiol. Chem. 57. 43, 1908.

2) Über die Entstehung bituminöser Stoffe aus Fetten durch Oxydation vgl. § 118.

3) Compt. rend. ac. sc. 138. 378, 1904.

aus Essigsäure aufbauen kann (§ 130). Man könnte sich denken, daß die Gärung dabei nach den einfachen Formeln



erfolgte. Die nötige Energie würde durch die gleichzeitigen Oxydationen oder Spaltungen der Zellen geliefert werden können.

Daß die Unterscheidung zwischen diesen „Gärungen“ und den Synthesen, durch die das Protoplasma Leibessubstanz aufbaut, nur eine künstliche ist, wurde schon öfter von uns hervorgehoben.

Kapitel VIII.

Wandlungen der Glykoside und aromatischen Körper.

§ 153. **Einleitung.** Die Glykoside ähneln den zusammengesetzten Zuckern, Di- und Trisacchariden, dadurch, daß sie ätherartige Verbindungen sind, die bei der Hydrolyse durch Säure oder Enzyme einfachen Zucker abspalten, andererseits leiten sie zu den **a r o m a t i s c h e n** **S t o f f e n** über, weil sie — wenigstens die natürlich vorkommenden Glykoside — gewöhnlich aromatische Bestandteile neben dem Zucker enthalten. Je nach der Beschaffenheit des Zuckers unterscheidet man die eigentlichen Glykoside, die Fruktoside, Galaktoside, Pentoside usw. Das erste Glykosid, das Amygdalin, wurde von **R o b i q u e t** und **B o u t r o n** 1830 in den bitteren Mandeln entdeckt und seine Spaltung in Glykose, Blausäure und Benzaldehyd (Bittermandelöl)



bald darauf von **L i e b i g** und **W ö h l e r**¹⁾ auf ein Ferment, das Emulsin (die Synaptase) der Mandel zurückgeführt. Andere glykosidspaltende pflanzliche Enzyme sind das Myrosin, das Senföl aus myronsaurem Kali, das Indigoenzym und die Isatase, die Indoxyl aus Indikan und Isatan bilden u. a. m. Jedes dieser Enzyme spaltet übrigens eine ganze Reihe von verschiedenen Glykosiden. Die Verbreitung der Glykoside im Pflanzenreich ist eine sehr weite. Ihrer **S p a l t u n g** entstammen zum großen Teil die **R i e c h s t o f f e** (z. B. Benzaldehyd, Vanillin), die für die Pflanzen so charakteristisch sind. **T i e f e r e n** **S p a l t u n g e n** der (intramolekularen Atmung) zugänglich sind natürlich die zuckerartigen Bestandteile der Glykoside (vgl. Kap. VI). Durch **O x y d a t i o n** der aromatischen Spaltungsprodukte entsteht dagegen der größte Teil der **P f l a n z e n f a r b s t o f f e**, so z. B. der Indigo aus dem Indoxyl, die Orseille aus dem Orzin. Ein Chromogen ist auch das Hydrochinon, das aus dem Glykosid Arbutin hervorgeht. Denn durch Oxydation dieses und anderer in Pflanzen weit verbreiteter

1) Annal. der Chem. u. Pharm. 22, 837.

aromatischer Stoffe wie des Tyrosins¹⁾ wird die d u n k l e F ä r b u n g auf den Schnittflächen von rohem Obst, Kartoffeln, Hutpilzen, im Rübensaft usw. bedingt. Neuerdings glaubt man Grund zu haben, diese Veränderung auf das Vorkommen von Enzymen, „Oxydasen“, in den Pflanzen zurückführen zu können. B e r t r a n d hat z. B. eine „Lakkase“ und „Tyrosinase“ unterschieden. Natürlich sind auch weitergehende Oxydationen nicht ausgeschlossen.

In viel größerer Menge als die eigentlichen Glykoside treten in den Pflanzen die G e r b s t o f f e auf, die in chemischer Hinsicht ihnen nahestehen und ähnlichen Veränderungen unterliegen. Am schwierigsten zersetzbar sind die H u m u s s t o f f e.

Auch die für die Technik so bedeutungsvoll gewordenen künstlichen F a r b s t o f f e sind aromatische oder sonstige ringförmige Verbindungen. Als Nahrungsstoffe kommen sie nicht in Betracht, sind vielmehr Gifte²⁾. Sie werden durch organische „Reduktasen“ in ungefärbte „Leukoprodukte“ verwandelt.

Alle diese Veränderungen scheinen auch unter dem Einfluß von Mikroorganismen zustande zu kommen, die ja den größten Teil der genannten Stoffe zu ihrer Existenz benutzen können (§ 33). Bei vielen in der Natur vorkommenden fermentartigen Vorgängen, die wir im folgenden besprechen werden (§ 156, 157, 162), kann man aber mit Recht zweifeln, ob sie, wie man früher vielfach angenommen hat, den Mikroben und nicht vielmehr den Zellen höherer Organismen ihren Ursprung verdanken. Die oberflächlichen Oxydationen und Reduktionen der Farbstoffe haben zwar für die Ernährung der Kleinwesen kaum eine Bedeutung, sind aber abgesehen von ihrer theoretischen Wichtigkeit für die Differentialdiagnostik der Bakterien von einem gewissen Wert.

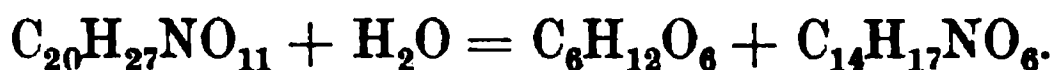
§ 154. **Hefe-Emulsin.** Nach L a u r e n t ³⁾ vermag sich die Bierhefe mit Amygdalin, Salizin, Äskulin, Koniferin, Arbutin und Saponin, nicht mit Tannin, Gallussäure, Saligenin, Phloridzin, Phenol, Chinon, Hydrochinon, Pikrinsäure, Benzoesäure, Anilin als einziger Kohlenstoffquelle zu ernähren. Wenn man berücksichtigt, daß die erstgenannten Körper sämtlich Glykoside sind und mit Ausnahme des Saponins solche Glykoside, die auch vom Mandelemulsin (§ 153) gespalten werden, so könnte man schließen, daß die Hefe imstande

1) Die tieferen Spaltungen und Oxydationen des Tyrosins und anderer stickstoffhaltiger aromatischer Kerne bzw. Abkömmlinge des Eiweiß werden in Kap. IX und X behandelt.

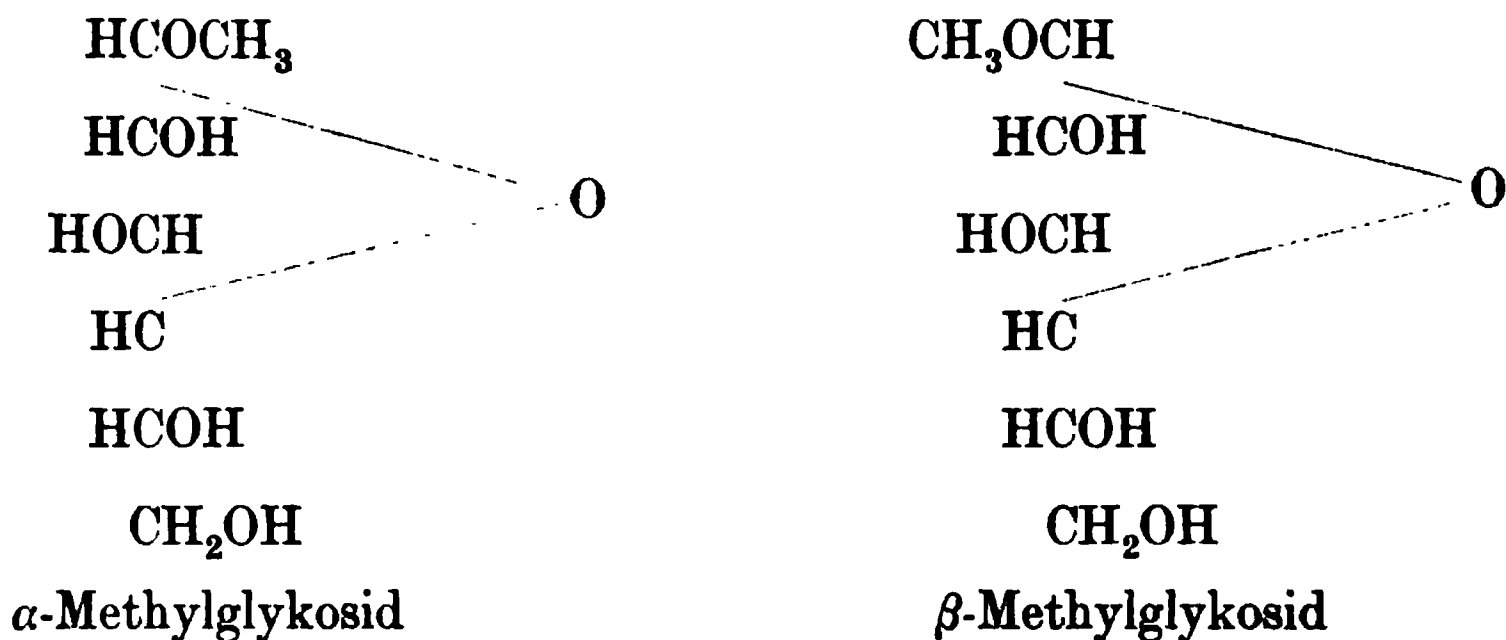
2) Auch die aromatischen Spaltungserzeugnisse der Glykoside sind übrigens zum Teil Gifte (s. u.).

3) Annal. Pasteur 1889.

sei, dieses Enzym abzusondern. E. F i s c h e r ¹⁾ hat aber mit Hilfe eines Auszuges aus getrockneter Hefe nur das Amygdalin spalten können, und zwar auch nicht so vollkommen, wie durch das Mandelemulsin, sondern nur unvollständig zu Mandelnitrilglykosid und Traubenzucker



Wir könnten daher annehmen, daß die Hefe nur ein emulsinähnliches Enzym, das wir in Ermangelung eines besseren Namens Hefeemulsin nennen wollen, ausscheidet und die übrigen Glykoside unmittelbar verarbeitet (oxydiert). Indessen haben H e n r y und A u l d ²⁾ neuerdings gezeigt, daß Hefe (und Preßsaft) auch Mandelsäurenitrilglykosid, ferner Salizin, Arbutin u. a. spaltet. E. F i s c h e r hat auch noch weitere Unterschiede zwischen dem gewöhnlichen und dem Hefeemulsin gefunden. Von den synthetisch dargestellten optisch sich verschieden verhaltenden Alkylhexosiden spaltet die Hefe nur die α -Form, das Mandelemulsin nur die β -Form.



Es ist das wieder ein schönes Beispiel für den Einfluß der K o n f i g u r a t i o n auf den Verlauf der Zersetzungen. Die Sache wird dadurch noch interessanter, daß die Hefe nur die Glykoside spaltet, die einen ähnlichen molekularen Bau haben, wie die Zucker, die sie zu vergären vermag, nämlich außer dem α -Methyl-d-Glykosid und dem α -Äthyl-d-Glykosid (entsprechend der d-Glykose) das α -Methyl-Galaktosid (d-Galaktose) und Methylfruktosid (Fruktose), nicht dagegen die Glykoside der l-Glykose, Xylose, Arabinose, Rhamnose, Sorbose. Damit aber auch diese Regel eine Ausnahme hat, wurde festgestellt, daß die Methyl-d-Mannose, also das Glykosid eines gut vergärbaren Zuckers, weder von der Hefe noch vom Mandelemulsin angegriffen wird.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 1898.

2) Proceed. Roy. Soc. 76, 1903.

Da derselbe Hefeauszug, der die Glykoside spaltet, auch die Maltose hydrolysiert, halten Fischer und ebenso Pottevin¹⁾ die Hefemaltase für identisch mit dem Hefeemulsin²⁾. Ein strenger Beweis dafür ist nicht geliefert, vorläufig ist es wohl besser, die Trennung aufrecht zu halten. Vorsicht lehrt auch das Verhältnis, in dem das Mandelemulsin zur Laktase steht. Man könnte glauben, daß das Emulsin selbst die Laktose spalte, weil der Mandelauszug es tut. Bourquelot und Hérissé³⁾ haben aber gezeigt, daß das Schimmelpilzemulsin (§ 155) Laktose unberührt läßt. Im Mandelauszug wäre also wohl Emulsin neben Laktase vorhanden.

Der laktasehaltige Auszug der Milchwuckerhefe (§ 82) ist ohne Wirkung auf die natürlichen Glykoside, greift aber β -Methylgalaktosid und -äthyl- und -phenylgalaktosid ebenso an⁴⁾ wie die Laktase der Mandel, man könnte sie also vielleicht mit letzterer identifizieren.

Bemerkenswert ist, daß Hefeemulsin (vgl. Maltase § 79) nach Emmerring⁵⁾ imstande ist, aus Mandelnitrilglykosid und Glykose Amygdalin aufzubauen. Es handelt sich also bei der Glykosidspaltung um einen umkehrbaren Vorgang (§ 163).

§ 155. Schimmelpilz-Emulsin. Bourquelot⁶⁾ hat schon 1893 eine Art Emulsin im *Aspergillus niger* und Gérard⁷⁾ in *Penicillium glaucum* nachgewiesen. Auch in vielen anderen Pilzen, besonders den holzbewohnenden, kommt es vor⁸⁾. Es ist aus *Aspergillus* leicht zu gewinnen, wenn man den Pilz auf Raulinscher Lösung kultiviert und zur Zeit der Sporenreife die Nährlösung durch destilliertes Wasser ersetzt. Zum Unterschied von dem Mandelemulsin (§ 153) spaltet das Pilzemulsin auch Populin und Phloridzin, nicht dagegen die Laktose (§ 154) und das β -Methyl-d-Galaktosid. Auch Pottevin hat das bestätigen können, doch fand er, daß der *Aspergillus niger* durch Kultur in Laktose oder β -Methyl-d-Galaktosid daran gewöhnt werden kann, beide Körper zu spalten. Das entsprechende Enzym finde sich jedoch nur im Extrakt des Pilzes, wenn

1) Annal. Pasteur 1903.

2) Pottevin nimmt dabei aber an, daß der gewöhnlichen Hefemaltase ein anderes Enzym beigemischt sei, das das Methyl-Fruktosid spalte, weil die Maltase des *Schizosacch. octosporus* dazu nicht imstande ist. Wir verweisen auf seine theoretischen Ausführungen.

3) Compt. rend. biol. 1903. 219.

4) E. Fischer und Armstrong, Ber. chem. Ges. 1902. 3141.

5) Ber. chem. Ges. 1904. 3810.

6) Compt. rend. biol. 1893. 653.

7) Ebenda 651.

8) Bourquelot und Hérissé, Kochs Jahresber. 1894. 334.

man dessen Zellen vorher zerrieben habe. Umgekehrt könne man durch Züchtung in α -Methyl-d-Galaktosid den Pilz zur Zersetzung dieses Körpers erziehen. Im letzteren Fall bliebe er aber unwirksam auf Laktose und das β -Galaktosid. P o t t e v i n unterscheidet deshalb vier Enzyme: das Aspergillusemulsin, das er mit dem der Mandeln identifiziert, die Maltase (= Hefeemulsin § 154), die β -Laktase, die er der Laktase der Milchzuckerhefen und der Mandeln gleichstellt, und die α -Laktase. Je nachdem dem Pilz dieser oder jener Nahrungsstoff geboten werde, passe er sich ihm an durch Erzeugung der nötigen Enzyme. Das letzte Wort in dieser Angelegenheit, namentlich was die Identifizierung der Enzyme verschiedener Organismen angeht, ist noch nicht gesprochen, da genauere Vergleiche über ihre Eigenschaften, z. B. ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber der Wärme, fehlen und Trennungsversuche doch vielleicht noch Erfolg haben. Das Bestreben, die Forderungen einer Lieblingstheorie erfüllt zu sehen, führt manchmal auf Abwege.

Nach Brunstein¹⁾ und Schäffer²⁾ bilden die meisten Schimmelpilze außer emulsinähnlichen Enzymen auch solche, die Saponin, Glykyrrhizin, vielleicht auch myronsaures Kali³⁾ zersetzen, nach Behrens⁴⁾ spalten sie auch Querzitrin.

Unerwartet, aber von anderen Forschern noch nicht bestätigt, ist nach Puriewitsch⁵⁾ das Verhalten der Schimmelpilze gegen das Amygdalin. Während die Auszüge aus ihren Zellen dieses Glykosid wie das Mandelemulsin zu Glykose, Benzaldehyd und Blausäure spalten (S. 454), entstehen diese Körper nicht in den lebenden Pilzkulturen, obwohl auch hier der Amygdalingehalt allmählich abnimmt. Vielleicht entsteht dabei zunächst, wie durch Kochen mit Alkalien, unter Abspaltung von Ammoniak Amygdalinsäure und aus letzterer wieder, wie durch Kochen mit Säuren, Glykose und Mandelsäure. In ähnlicher Weise verbraucht nach demselben Verfasser⁶⁾ der Aspergillus niger das Helizin, ohne es, wie das Emulsin, in Salizylaldehyd und Zucker zu spalten; so kommt es, daß dieser Pilz auch nicht durch hohe Helizingaben in seinem Wachstum geschädigt wird, während die anderen Arten, wie z. B. Penicillium, die antiseptische Wirkung des Salizylaldehyds erfahren. In dünnen Lösungen können auch sie freilich diesen Widerstand überwinden, indem sie das schädliche Spaltungs-

1) Beiheft z. bot. Zentralbl. 1901. 1.

2) Dissert. Erlangen 1901.

3) S. aber unten S. 461 bei Senfgärung.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 577.

5) Ber. bot. Ges. 1898. 368.

6) Jahrb. wiss. Bot. 40. 1904.

produkt oxydieren. Dabei entsteht in diesem Falle vorübergehend Salizylsäure, ebenso bei der Oxydation des schädlichen Hydrochinons (aus dem Arbutin) Chinon. Wir kommen weiter unten bei den Bakterien auf diese Oxydationen, die zum Teil unter **F a r b s t o f f b i l d u n g** verlaufen, zurück. Dahin gehören auch die braunen Färbungen, die die Pilze der Obstfäulnis (*Oidium fructigenum*, *Botrytis cinerea*) in dem morschen Gewebe erzeugen. Ob dabei isolierbare Oxydasen (§ 159) ins Spiel treten, ist vorläufig noch zweifelhaft (**B e h r e n s**).

§ 156. **Zersetzungen von Glykosiden durch Bakterien¹⁾. Farbgärungen.** Nachdem schon früher gefunden war, daß Amygdalin bei der Fäulnis gespalten wird, haben **F e r m i** und **M o n t e s a n o**²⁾ eine große Reihe von Bakterien daraufhin systematisch untersucht. Von den bekannten zeigten sich nur einige Rassen des *Bact. coli* und der *Vibrio Metschnikoff* zu der Spaltung befähigt und auch nicht auf allen Nährböden, z. B. nicht bei Gegenwart von Zucker. Ein Enzym konnten sie nicht isolieren. **G o n n e r m a n n**³⁾ fand die von ihm isolierten Colistämme ohne Wirkung auf Amygdalin und Arbutin, dagegen zwei andere Darmbakterien wirksam. Nach ihm und **G é r a r d** würde sich die Giftigkeit des Amygdalins nach Aufnahme durch den Mund durch die Wirkung der Darmbakterien erklären. 49 verschiedene Glykoside prüfte **T w o r t**⁴⁾ gegenüber der Coligruppe und sah am häufigsten verändert das Iridin und Senegin, dann das Euonymin, Salizin, Arbutin, Koniferin, selten das Amygdalin und Saponin, niemals Konvolvulin, Zyklamin, Jalapin. Zur Differentialdiagnose ist das Verhalten wohl deshalb nicht geeignet, weil leicht **A n p a s s u n g e n** stattfinden (s. o. S. 457). Zur Trennung verwandter Bakterien empfiehlt dagegen **v a n d e r L e c k**⁵⁾ besonders die beiden Glykoside Äskulin und Indikan. Sie werden z. B. von dem Coli- und *Aërogenes*bazillus, sowie dem *Bac. acidoaromaticus* zersetzt, nicht von dem *Bac. aromaticus*. Die Fähigkeit zur Zersetzung des **I n d i k a n s** durch Bakterien hatte schon **A l v a r e z** bei dem *Bac. indigogenus* und den ihm nahestehenden *Bac. pneumoniae* und *rhinoscleromatis* gefunden. Nach **M o l i s c h**⁶⁾ besitzen sie sogar außer Schimmelpilzen (*Penicillium*, *Mucor*) und dem *Bact. coli* der *Bac. anthracis*, *prodigiosus*, die *Sarcina lutea* und *Cladothrix dichotoma*. **B e i j e r i n c k**⁷⁾ schreibt Indikan-

1) Vgl. auch § 112.

2) Zentr. Bakt. 15. 722, 1894.

3) **P f l ü g e r s** Arch. 113, 1906.

4) **Proceed. Roy. Soc.** 79. 329.

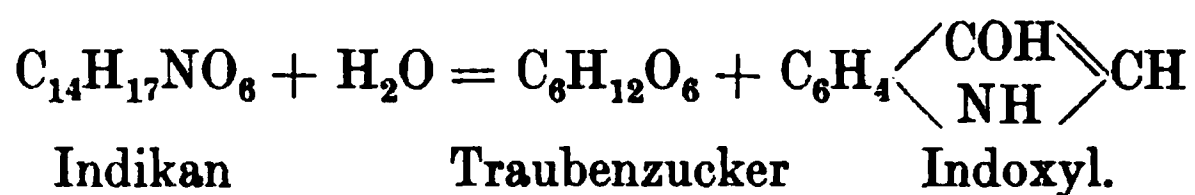
5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 486 und 654, 1907.

6) **Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien. Naturw. Kl.**, 1898, 107. Bd. 1. Abt. 787.

7) **Akad. Wetensch. Amsterdam** 31. 3. 1900 und Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 199, 1900.

zersetzung allen Mitgliedern seiner Gruppe „Aërobacter“ mit Ausnahme des *B. coli* zu und betrachtet sie als einen „katabolischen“, d. h. nicht durch ein isolierbares Enzym oder tote Bakterien verursachten Vorgang. Ähnlich sollen sich *Saccharomyces Ludwigii* und *Monilia candida* verhalten, während gewisse Rassen des *Bac. radicola*, der (lange) Milchsäurebazillus der Brennerreimaischen und viele andere Hefen und Schimmelpilze Indikan spaltende Enzyme (Indoxylasen, Indiemulsin) bilden. Wenn man die Fähigkeit zur Indikanzersetzung nachweisen will, darf man sich übrigens nicht damit begnügen, die Bakterien auf beliebigen Nährböden zu züchten, sondern kultiviert am besten in einer Abkochung der Indigopflanzen selbst (M o l i s c h¹⁾).

A l v a r e z hatte geglaubt, seinen Bazillus für die natürliche bzw. gewerbliche Indigogärung verantwortlich machen zu dürfen. Das wurde aber zweifelhaft, als v a n L o o k e r e n - C a m p a g n e²⁾ in den Indigopflanzen selbst ein Enzym nachwies, das noch bei 55° oder bei Zusatz von 2,5% Karbolsäure und 1‰ Sublimat die Spaltung des Indikans bewirkte. B r é a u d a t³⁾, M o l i s c h und B e i j e r i n c k bestätigten das und machten es wahrscheinlich, daß bei der Indigogärung die Bakterien wirklich keine wesentliche Rolle spielen, ja, sie durch nebenher laufende andere Gärungen geradezu stören können. Die Indikanspaltung erfolgt in allen Fällen nach der Formel:



Das lösliche Indoxyl (Indigweiß) oxydiert sich dann an der Luft zu zu dem unlöslichen Indigotin (Indigblau). Eine „Oxydase“ scheint dazu nicht nötig zu sein, obwohl v a n L o o k e r e n sie in den Indigopflanzen gefunden haben wollte. Im Waid (*Isatis tinctoria*) wird das Indikan nach B e i j e r i n c k⁴⁾ durch Isatan ersetzt und aus diesem letzteren, ebenfalls durch ein in der Pflanze enthaltenes (unlösliches) Enzym, die „Isatase“, Indoxyl gebildet. Bakterien sind dazu nicht imstande. Die Indiemulsine der einzelnen Pflanzen und Pilze unterscheiden sich nach B e i j e r i n c k durch ihre ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzung. Bei 61° wird das Indigoferaenzym, bei 44° das des *Saccharom. sphaericus*, bei 42° das des *Polygonum tinctorium* vernichtet. Etwas saure Reaktion begünstigt die Spaltung.

1) Zur Technik vgl. v a n d e r L e c k.

2) Landwirtsch. Versuchsstation. 48, 1894.

3) Compt. rend. ac. sc. 127. 769, 1898.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 155.

Eine andere Farbstoffgärung, bei der das Erythrin der Orseille-Flechten (*Roccella tinctoria* u. a.) in Orzellinsäure, Kohlensäure, Orzin und den vierwertigen Alkohol Erythrit gespalten wird, kann nach Czapek¹⁾ ebenfalls durch Bakterien hervorgerufen werden. Ob hier wie in anderen Fällen, so bei der Lakmus- und Krappgärung, die Bakterien auch unter natürlichen Verhältnissen die wesentliche Rolle spielen, bleibt vorläufig noch unentschieden.

Wenig wahrscheinlich ist die Beteiligung von Mikroorganismen bei der Entstehung des Senföls aus Sinigrin (myronsaurem Kali), weil das Senföl außerordentlich stark antiseptisch wirkt und in dem Senfsamen selbst genug Enzym vorhanden ist. Das hindert nicht, daß in der ersten Zeit der Senfgärung, d. h. vor der Entstehung des Senföls, große Mengen von Pilzen und Bakterien dabei vorkommen und Nebengärungen verursachen²⁾.

Eine solche nur vorbereitende Tätigkeit schreibt Löw³⁾ auch den Hefen und Bakterien zu bei der Kakao- und Kaffeegärung. Die durch sie hervorgerufene Alkohol- und Essigsäuregärung soll nur dazu dienen, die schleimige Hülle der Samenkapseln zu lockern und zu zerstören, Aroma und Farbstoff würden aber, um von dem Koffein usw. gar nicht zu reden, durch Fermente der Pflanze selbst geliefert⁴⁾.

Dasselbe gilt wohl für die Kola-, Tee- und Vanillegärung⁵⁾, sowie für die Entstehung von vielen Riechstoffen in Obstsäften, Blüten usw. Daß aber auch die Bakterien und Pilze guten und schlechten Geruch erzeugen können, ist sicher. Der Einfluß der Hefeart auf das Bukett des Weins ist ein schon erwähntes Beispiel dafür (§ 90 u. 95). Die Entstehung dieser Aromas ist freilich bisher nur wenig aufgeklärt. Manche gehören überhaupt nicht hierher. Obwohl es sich z. B. bei der Fäulnis sicher um aromatische Stoffe handelt, gehen sie nicht aus Glykosiden hervor, sondern aus dem Abbau des Eiweißes. Ferner sind die Fuselöle und das Aroma des *Bac. praepollens* gar keine aromatischen, sondern aliphatische Verbindungen. Wir kommen darauf an anderer Stelle zurück (§ 173).

Wenn wir nicht den geringsten Anhaltspunkt dafür haben, daß die in Kakao, Kaffee, Tee usw. enthaltenen Purinbasen durch bakterielle Spaltung von Glykosiden entstehen, ja, deren Herkunft aus

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 49, 1898.

2) Kossowicz, Zeitschr. landwirtsch. Versuchswesen in Österreich 1905 und 1906.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 533, 1908.

4) Vgl. Schweitzer, Pharmaz. Zeitg. 1898.

5) S. bei Behrens in Lafars Handb. 1. 654 ff.

Glykosiden überhaupt zweifelhaft ist¹⁾, so kommen derartige Beziehungen bei den eigentlichen Alkaloiden (Pyridin- und Chinolinbasen) gar nicht in Betracht. Allerdings kennen wir auch eine Opiumgärung. Sie dient aber nur zur Herstellung des zum Rauchen dienenden Opiums und läßt nach Calmette²⁾ die Alkaloide unberührt, während sie die Gerbstoffe (§ 158) angreift. Hauptsächlich soll dabei der *Aspergillus niger* beteiligt sein. Die Tabakgärung hat, wie wir gleich sehen werden, auch mit der Bildung des Nikotins nichts zu tun, führt aber zu dessen teilweisem Verbrauch. Alkaloidartige Stoffe entstehen dagegen vielfach bei der Fäulnis des Eiweißes (§ 170, vgl. auch Ptomaine § 259).

§ 157. **Tabaksfermentation, Selbsterhitzung des Heus und anderer Pflanzenstoffe.** Bei der Tabakbereitung werden die getrockneten Blätter in großen Haufen zusammengeschichtet und unterliegen einer mit starker Temperaturerhöhung verbundenen Veränderung, die man mit den Gärungen auf eine Stufe gestellt hat. Nach Behrens³⁾ findet dabei außer einer Veredelung des Aussehens und Aromas ein Verlust von 4 — 5% an Trockensubstanz statt, die in erster Linie Kohlenhydrate und nicht flüchtige organische Säuren, Salpetersäure, Asparagin, dann aber auch das Nikotin betrifft. Der Gehalt an flüchtigen Säuren steigt, Ammoniak wird nicht gebildet. Behrens selbst sieht als Ursache der Gärung, wie schon vor ihm Suchsland⁴⁾ und nach ihm Vernhout⁵⁾ und Koning⁶⁾, Mikroorganismen an. Die Versuche mit Reinkulturen hatten aber sehr ungleiche Ergebnisse und widerlegten selbstverständlich nicht die zweite Möglichkeit, daß die Gärung wesentlich durch Fermente der Pflanzen selbst verursacht würde. Nach Loew⁷⁾ spräche sogar das Mißverhältnis zwischen der Zahl der gefundenen Keime und der Energie der Gärung, ferner der geringe Wassergehalt des fermentierenden Tabaks gegen die Keimtheorie. Einen unmittelbaren Beweis für die Fermenttheorie sieht er darin, daß es ihm gelang, aus Tabaksblättern eine Oxydase, Peroxydase und Katalase (s. u. § 160) zu gewinnen. Behrens⁸⁾ erhob schon Bedenken gegen deren Bedeutung. Neuerdings verstärkte

1) S. bei Behrens a. a. O. und Czapek, Biochemie der Pflanzen 2. Bd. 1905. Über Zersetzung der Purinbasen vgl. § 193.

2) Revue scientifique vom 27. II. 1892 (Kochs Jahresber.).

3) Landwirtsch. Versuchsstation. 43, 1893.

4) Ber. D. bot. Ges. 1891 und bei Behrens in Lafars Handb. 5. 8 sowie in Kochs Jahresber.

5) Ebenda (Behrens).

6) Ebenda.

7) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 108 und 590 und 7. 674, 1901.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 1.

O. J e n s e n ¹⁾ diese durch die Beobachtung, daß nicht nur einfache Erhitzung in strömendem Wasserdampf dem Tabak die Eigenschaften des fermentierten verleihe, sondern auch die „Gärung“ durch Behandlung der Blätter mit Sublimat, Chloroform und Formaldehyd nicht verhindert werde. Freilich sprechen diese Tatsachen auch gegen die Beteiligung von Mikroorganismen. Wenn sie zu recht bestehen, d. h. wenn wirklich durch diese Bearbeitung Leben und Enzymwirkung ausgeschlossen ist, bleibt jedoch unklar, worauf denn nun eigentlich der Vorgang der Gärung zurückzuführen ist.

Mehr Klarheit herrscht über die Ursachen der unter ähnlichen Erscheinungen verlaufenden Gärung, die in zusammengepacktem H e u entsteht. Die S e l b s t e r h i t z u n g kann dabei Temperaturgrade bis zu 90° erreichen, ja, zur S e l b s t e n t z ü n d u n g führen. Daß man die Veränderungen im gegorenen Heu auch auf rein chemischem Wege, d. h. bei Ausschluß von Bakterien und Enzymen erzielen kann, zeigten B o e k h o u t und O t t d e V r i e s ²⁾ zunächst durch längeres Erhitzen des Heus auf 100° unter Sauerstoffzufuhr, M i e h e ³⁾ fand aber, daß unter natürlichen Bedingungen die Tätigkeit der Keime wahrscheinlich die Hauptbedeutung hat, denn sterilisiertes Heu ist zur Gärung unfähig, vergärt aber nach Beimpfung mit einer Mischung von *Bac. coli*, *Oidium lactis* und *Bac. calfactor*, einem neuen Bakterium, das zwischen 30—70° und vielleicht noch höher hinauf gedeiht. Völliger Sauerabschluß verhindert die Gärung. T h e r m o p h i l e Pilze und Strahlenpilze bilden einen Nebebefund (§ 42).

Auch andere Pflanzenstoffe unterliegen bei Zusammenhäufung der Selbsterhitzung, z. B. frisches Gerstenmalz⁴⁾, Baumwollabfälle⁵⁾, Hopfen⁶⁾, frische Tabakblätter, Äpfel, Zitronen usw. Aber nur zum Teil ist es wahrscheinlich gemacht worden, daß Pilze und Bakterien die Ursache davon sind, zum Teil sind es wohl die in den überlebenden Pflanzenteilen sich noch fortsetzenden enzymatischen Prozesse, seien es nun anaërobe Spaltungen (§ 85 u. 101) oder Oxydationen. Jedenfalls lassen sich die h ö c h s t e n Temperaturgrade und die gelegentlich beobachtete Selbstentzündung nicht allein durch die Tätigkeit der Mikroorganismen erklären, führen sie doch häufig zur Selbststerilisation des Materials; man ist vielmehr genötigt, andere Vorgänge

1) Zentr. Bakt. 21. 469, 1908.

2) Ebenda 12, 15 und 21.

3) Selbsterhitzung des Heus, 1907, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 20. 295.

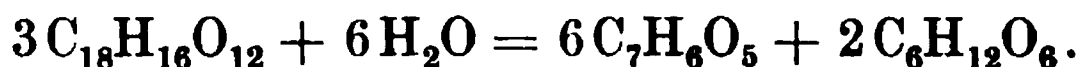
4) F. C o h n , K o c h s Jahresber. 1890. 40 und 1893. 81.

5) Ebenda.

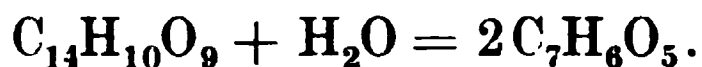
6) B e h r e n s , Woch. f. Brauerei 1896 und L a f a r s Handb. 1. 608 ff.

daneben noch anzunehmen. R a n k e , W o h l t m a n n und zuletzt H o f f m a n n ¹⁾ haben gefunden, daß z. B. durch trockene Destillation bei 250—300° Heu, Kleie usw. sich in eine bei gewöhnlichen Temperaturen an der Luft entzündliche Masse verwandeln. Ähnliche Veränderungen werden wohl auch bei den genannten „Gärungen“ stattfinden.

§ 158. **Veränderungen der Gerb- und Humusstoffe.** Seitdem Scheele 1786 beobachtet hatte, daß Galläpfel bei der Fäulnis an offener Luft Gallussäure abschieden, versuchte man ihr Entstehen aus dem „Gerbstoff“ auf verschiedene Weise, sei es durch Oxydation, sei es durch fermentative Spaltung zu erklären. Schon L a r o q u e , namentlich aber v a n T i e g h e m ²⁾ führten den Prozeß auf die Wirkung von organischen Fermenten, und zwar von Schimmelpilzen (*Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*) zurück, F e r n b a c h ³⁾ zog dann aus Pilzrasen, die er auf Tanninlösung gezüchtet hatte, ein Enzym, die „Tannase“, aus, das durch Niederschlagen mit Alkohol gereinigt werden konnte und die Spaltung des Gerbstoffs wie der lebende Pilz vollzog. Der letztere sollte ein Glykosid sein, das Traubenzucker und Gallussäure in verschiedenem Verhältnis gebunden enthält und durch Einführung von Wasser in beide Körper zerfällt⁴⁾. Z. B. würde sich nach der ältesten von P e l o u z e und L i e b i g gegebenen Formel des Tannins die Spaltung wie folgt vollziehen:



Faßte man dagegen das gereinigte Tannin des Handels als Digallussäure⁵⁾ auf, so verlief nach P o t t e v i n ⁶⁾ die Spaltung durch das Enzym nach der Gleichung:



Das stimmt aber wieder nicht mit dem von M a n e a ⁷⁾ gelieferten Nachweis, daß die synthetisch dargestellte Digallussäure durch die Schimmelpilze nicht gespalten wird, vielmehr für sie ein Antiseptikum ist. Wie die Dinge wirklich liegen, ist also vorläufig nicht zu sagen. Die günstigste Temperatur für die Wirkung des Enzyms liegt sehr hoch, nämlich bei 67° C. Es wird nur bei Kultur auf Tannin gebildet.

1) Woch. Brauerei 1897. 437 (bei B e h r e n s).

2) Annal. scienc. natur. Botanique, 1868.

3) Compt. rend. ac. sc. 131. 1214, 1900.

4) S t r e c k e r , L i e b i g s Annal. 81 und 90; K u n z - K r a u s e , Pharmazeut. Zentralhalle 1898 und Chem. Zeitung 1904. 942.

5) S. z. B. N i e r e n s t e i n , Ber. chem. Ges. 1905. 3641; 1907. 916.

6) Compt. rend. 131. 1215 und 132. 704, 1901.

7) Thèse de G e n è v e , 1904 bei B e h r e n s in L a f a r s Handb. 1. 662.

Nicht nur der Zucker, sondern ebenso die Gallussäure dienen den Schimmelpilzen nach vollzogener Spaltung zur Nahrung, und zwar so vollständig, daß die Pilzernte 25—30% des Tanningewichts erreichen kann. Vielleicht spielt die Tannase auch eine Rolle bei der Opiumgärung (s. o. S. 462).

Die Gerbstoffe sind im Pflanzenreich allgemein verbreitet und werden in weit beträchtlicheren Mengen gebildet als die Glykoside. Sie sind in der Regel viel weniger zersetzlich als das Tannin der Galläpfel, ja sie gehören z. T. geradezu zu denjenigen organischen Körpern, die von den Mikroorganismen sowohl wie von atmosphärischen Kräften am schwierigsten angegriffen werden. Wahrscheinlich liegt das daran, daß die ursprünglichen Gerbsäuren durch Wasserentziehung in die sogenannten „Gerbstoffrote“ oder „Phlobaphene“ übergehen. Ebenso widerstandsfähig sind die aus aromatischen Substanzen durch Oxydation hervorgehenden, in § 153 erwähnten dunklen Farbstoffe („Melanine“) und die beiden Gruppen vielleicht verwandten *H u m i n s u b s t a n z e n*, die bei der Verwesung pflanzlicher Stoffe im Boden entstehen (§ 118). Nach *Reinitzer* und *Nikitinsky* vermögen Mikroorganismen zwar den spärlichen Stickstoff der letzteren zu ihrer Ernährung zu benutzen (S. 112), aber nicht den Kohlenstoff (S. 118). Immerhin steigern sie nach *Nikitinsky* die schon ohne Mitwirkung von Keimen unter Kohlensäureabspaltung stattfindende Oxydation der Huminstoffe in erheblichem Grade, so daß man eine sehr langsame Zersetzung durch sie annehmen darf. Unter Umständen, wie z. B. im Torf, wird die Zersetzung aber durch die Gegenwart antiseptischer Stoffe bzw. Säuren noch behindert werden.

§ 158 a. **Veränderungen von aromatischen Holzbestandteilen durch Pilze.** Der Zersetzung besonders durch Pilze zugänglich sind gewisse, wie die Gerbstoffe den aromatischen Substanzen mehr oder weniger nahestehende Bestandteile des Holzes, das *Hadromal* und *Lignin*. Das erstere ist nach *Czapek*¹⁾ ein aromatischer Aldehyd, der mit Zellulose zu einem Äther verbunden ist und aus ihm durch ein Enzym holzerstörender Pilze (*Merulius lacrymans*, *Pleurotus pulmonarius*), die „*Hadromase*“, abgespalten wird. Das *Hadromal* selbst wird dabei nicht angegriffen, aber die Zellulose durch das entsprechende Enzym, die Zellulase (*Zytase* § 76), und auch das *Lignin* (*Ligninsäure*²⁾), zersetzt. Andere Pilze, z. B. *Trametes pini*, lassen wieder die Zellulose mindestens zum Teil unberührt und verbrauchen bloß den letztgenannten kohlenstoff- und sauerstoffreichen „inkrustieren-

1) Ber. deutsch. bot. Ges. 1899. 166.

2) Empirische Formel $C_{10}H_{11}O_8$, vgl. *Czapek*, Biochemie 1. 566.

den“ Bestandteil des Holzes, so daß das Bild des zerfressenen Holzes an künstlich durch die *Schulze'sche Mazerationsflüssigkeit* vom Lignin befreites Holz erinnert (*Hartig*¹⁾). Wieder andere zerstören nur die wenig verholzte, nicht mit Lignin imprägnierte Zellulose.

§ 159. **Oxydasen.** Sind die eben beschriebenen Veränderungen, soweit sie überhaupt auf Wirkungen von Kleinwesen zurückführen, verwickelter Art, so gehören andere in das Gebiet der *Oxydationen*. Daß Glykoside und aromatische Stoffe von lebenden Pilzen und Bakterien mit oder auch ohne vorhergehende Spaltung vollständig verbraucht werden können, folgt aus den Ernährungsversuchen mit ihnen (§ 33). Daneben kennt man aber eine Reihe von Oxydationen, die unvollständig bleiben. Sie zeichnen sich gewöhnlich dadurch aus, daß dunkle *Farbstoffe* dabei gebildet werden, und werden, seit der Entdeckung der pflanzlichen und tierischen „Oxydasen“, gern auf solche Enzyme zurückgeführt²⁾. Man unterscheidet die direkten oder eigentlichen Oxydasen, die freien Sauerstoff zur Oxydation benutzen können, von den indirekten oder „Peroxydasen“, die den Sauerstoff Peroxyden, wie z. B. H_2O_2 entnehmen. *Chodat* und *Bach*³⁾ nehmen an, daß die Oxydasen zusammengesetzt seien aus „Oxygenasen“, die selbst eine Art organischer Peroxyde⁴⁾ seien und „Peroxydasen“, die aus ihnen den Sauerstoff übertragen sollen. Sie wären durch fraktionierte Fällung mit Alkohol zu trennen, aber wirkten allein fast gar nicht. Die Peroxydase könnte dabei durch Mangansalze ersetzt werden. Deren Bedeutung für die Oxydation war schon durch *Bertrand* erkannt worden. Nach anderen sollen auch Eisen- und andere Salze als „Kofermente“ eine Rolle spielen. Manche Stoffe, die „Ozonide“ *Bourquelots*, wie z. B. das Chinon, sollen schließlich noch durch ihren Ozongehalt Sauerstoff übertragen.

Die enzymatische Natur der Oxydasen wird übrigens von verschiedenen Seiten bestritten. In der Tat trifft für sie nach *Bach* und *Chodat*⁵⁾ selbst die sonst gültige Regel nicht zu, daß kleine Mengen Enzym große Stoffmengen verändern, vielmehr werden die Peroxydasen schnell verbraucht.

1) Zersetzungserscheinungen des Holzes usw. 1878, vgl. über diese und andere Holzzerstörungen auch *Tubeuf* in *Lafars Handb.* 3. 392 oder „Pflanzenkrankheiten“, 1895.

2) Vgl. Literatur bei *Oppenheimer*, *Fermente*, 2. Aufl., 1903, S. 346, *Czapek*, *Biochemie der Pflanzen* 2. 464, *Behrens* in *Lafars Handb.* 1, 668.

3) *Ber. d. chem. Ges.* 1903. 606 und 1904. *Biochem. Zentr.* 1903. 11/12.

4) *Ber. chem. Ges.* 1904. 1342 und 2434.

5) Vgl. Anm. 2.

Nichts wesentliches mit den oxydierenden Enzymen zu tun hat die „Katalase“, die Wasserstoffsuperoxyd in Wasserstoff und molekularen Sauerstoff spaltet, also nicht auf andere Körper oxydierend wirkt (s. u. § 160).

Die Zahl der beschriebenen Oxydasen ist sehr groß und würde wohl noch größer sein, wenn man nicht hauptsächlich bestimmte Farbreaktionen als Kennzeichen der oxydierenden Kraft benutzt hätte.

Mikroorganismen sind bisher noch nicht systematisch genug auf Oxydasen geprüft worden. Für die meisten Reaktionen liegen nur vereinzelte Angaben vor. So gibt die Hefe nach Gr ü ß ¹⁾ nicht die Sch ö n b e i n s c h e Guajakreaktion, enthält also nicht die von B e r t r a n d ²⁾ genauer studierte, im Pflanzenreich und bei den Hutpilzen weit verbreitete „Lakkase“. Wohl bläut sie Tetramethylparaphenylendiamin (W u r s t e r). Auch I s s a j e w ³⁾ sah in Glyzerinauszügen von Hefe die gleiche Reaktion wie Gr ü ß und außerdem die I n d o p h e n o l r e a k t i o n, glaubt aber auch das Ausbleiben der Guajakreaktion wie die beobachteten Unregelmäßigkeiten auf das gleichzeitige Vorhandensein eines „Reduktionskörpers“⁴⁾ beziehen zu müssen. Der Oxydationsvorgang wurde auch durch Feststellung der Sauerstoffabsorption und Abgabe von Kohlensäure nachgewiesen. Schon in den Auszügen allein ließ er sich verfolgen, in der Tat spricht schon die Bräunung des Hefepreßsaftes (E. B u c h n e r) für die Gegenwart autooxydabler Körper und einer Oxydase. Zusätze von Hydrochinon, Pyrogallussäure, Amidophenol verstärkten die Oxydation. Die Oxydase ließ sich durch Alkohol ausfällen.

Viele daraufhin geprüfte Schimmelpilze reagieren nach S c h ä f f e r ⁵⁾ nicht auf Guajakol allein, wohl mit Wasserstoffsuperoxyd zusammen, enthalten also wohl nur eine Peroxydase (s. o.). Mittels Neutralrots gelang allerdings P l a t o und G u t h ⁶⁾ eine intravitale Färbung von Körnern bei saprophytischen und parasitischen Schimmelpilzen. Auch lebende Bakterien der verschiedensten Art gaben mit diesem Farbstoff sowie nach D i e t r i c h und L i e b e r m e i s t e r ⁷⁾ mit einer Mischung von Dimethylparaphenylendiamin und α -Naphthol eine Körnchenfärbung. Diese ist aber als Fettreaktion erkannt worden (§ 22).

1) Wochenschr. Brauerei 1901. 310 ff.

2) Compt. rend. ac. sc. 118—123, 1894—1897. Vgl. oben § 153.

3) Zeitschr. physiol. Chem. 42. 137, 1904.

4) Vgl. unter Reduktasen § 161.

5) Erlanger phil. Dissert. 1901.

6) Zeitschr. f. Hyg. 38, 1901.

7) Zentr. Bakt. 32. 858, 1902.

Eine kochfeste, also von der Lakkase verschiedene Oxydase fanden *Henneberg* und *Wilke*¹⁾ mittelst der Blaufärbung durch Guajak-tinktur bei *Essigbakterien*. Wie die *Lakkase* färbt nach *G. Roux*²⁾ das *Bact. coli* Hydrochinon braun und einen in den Artischocken enthaltenen farblosen Körper grün. Eine Identifizierung mit der Lakkase des Lackbaumes und der Hutpilze (s. o.) wäre natürlich erst möglich, wenn auch deren übrige Reaktionen, d. h. die Oxydation des Anilins und Toluidins, Resorzins, Pyrogallols, der Kresole, des Guajakols und Guajakharzes, Eugenols, α -Naphthols usw. zuträfen. Besser unterrichtet ist man über das Vorkommen der ebenfalls von *Bertrand* zunächst aus Hutpilzen dargestellten *Tyrosinase*. Allerdings hat man auch hier nur wieder die Reaktion auf Tyrosin, nicht auf die übrigen oxydierbaren Stoffe (Kresole, Phenole usw.³⁾) studiert. Vereinzelte Angaben über die Braunfärbung von tyrosinhaltigen Nährböden finden wir bei *Beijerinck*⁴⁾, *Gessard*⁵⁾, *van der Leek*⁶⁾ betreffend die *Streptothrix* (*Actinomyces*) *chromogena*, eine „melanogene“ Varietät des *Pyocyaneus* (§ 253), den *Bac. tyrosinaticus* und *acido-aromaticus*. Mit fast vollständig negativen Ergebnissen untersuchte *Carbone*⁷⁾ daraufhin eine große Reihe von Bakterien, *K. B. Lehmann* und *Sano*⁸⁾ fanden aber wenigstens drei Arten: außer der *Actinomyces chromogenes* das *Bact. (fluorescens) putidum* und *phosphorescens*. Alle drei färbten die Nährböden zuerst braun, dann schwarz, und zwar gleichgültig, ob Zucker neben dem Tyrosin vorhanden war oder nicht. Die ersten beiden Mikroben taten das auch in eiweißhaltigen Nährböden ohne Tyrosinzusatz; offenbar vermögen sie selbst Tyrosin zu bilden. Der *Phosphorescens* war dazu nicht imstande, obwohl er die Platten verflüssigte, andere phosphoreszierende Bakterien gaben überhaupt keine Färbung. Die Versuche, Tyrosinase aus den Kulturen zu gewinnen, schlugen ebenso wie bei *Gessard* fehl⁹⁾. Auch bei Chloroformzusatz zu den Kulturen blieb die Färbung aus. Versuche mit Preßsaft wurden allerdings nicht gemacht, dagegen gelang es mit

1) Ebenda 2. Abt. 9. 725, 1902.

2) Compt. rend. ac. sc. 128. 289, 1899.

3) Compt. rend. ac. sc. 145. 1352, 1907.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6 und 7, 1900.

5) Annal. Pasteur 1901.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 17. 489 und 654.

7) Ebenda 19. 587.

8) Arch. f. Hyg. 67, 1908.

9) Ob die Chinonbildung, die *Beijerinck* für den *Actinomyces chromogenes* nachgewiesen hat, für den Oxydationsvorgang in Betracht kommt, wäre noch zu entscheiden (s. o. S. 466).

Glyzerin und Wasser, in geringem Grade auch mit den aus wässerigen Auszügen gewonnenen Alkoholniederschlägen¹⁾, eine Rotfärbung von Aloë und eine Blaufärbung von Guajaktinktur (bei Gegenwart von H_2O_2) hervorzurufen, also eine „Guajakase“ und „Aloinase“ bei den drei Stämmen nachzuweisen. Wahrscheinlich ist, daß auch andere Bakterien, außer den genannten, unter Umständen „intrazelluläre“ Tyrosinase bilden: die **Braunfärbung**, die in alten Kulturen, z. B. der **Friedländerschen** Pneumoniebazillen und der echten Dysenteriebazillen (**K r u s e**), auftritt, spricht dafür.

Der dunkle Farbstoff selbst, der aus dem Tyrosin und anderen aromatischen Produkten gebildet wird, ist seiner Natur nach noch nicht bekannt. Man hat ihn mit den tierischen „Melaninen“ auf gleiche Stufe stellen wollen, aber es scheint sehr fraglich, ob das Zwischenprodukt, das bei der „Alkaptonurie“ aus dem Tyrosin entsteht, die Homogentisinsäure, durch die pflanzliche und mikrobische Tyrosinase gebildet wird²⁾. Man wird übrigens nicht an einfache Oxydationen zu denken haben, sondern wie bei den Erzeugnissen der Lakkase an Stoffe, die durch gleichzeitige **K o n d e n s a t i o n** und **O x y d a t i o n** entstehen³⁾.

Auch die **F a r b v e r ä n d e r u n g e n**, die der **W e i n** erleidet und die manchmal zur Krankheit ausarten, gehören wahrscheinlich hierher. **P a s t e u r** hatte schon die grundlegende Beobachtung gemacht, daß bei reichlichem Sauerstoffzutritt, z. B. in halbgefüllten Flaschen, der weiße Wein in wenigen Wochen schon eine dunklere Farbe bekommt, während der Farbstoff des Rotweins sich niederschlägt und beide gleichzeitig einen anderen Geschmack annehmen — alles Veränderungen, wie sie im Fasse erst im Laufe von Jahren eintreten und den Charakter des alten Weins bedingen. Im Jahre 1894 machte man in Frankreich vielfach die Beobachtung, daß ein ähnlicher Prozeß den in gewöhnlicher Weise behandelten Wein des Jahres 1893 ergriff und ihn schnell verdarb. Mikroorganismen waren bei dieser Zersetzung, die man von früher her, wo sie gelegentlich auftrat, unter dem Namen „casse du vin“, in Deutschland als „Rahnwerden“ kannte, nicht nachweisbar. Die Bedeutung des Sauerstoffs für die Veränderung war schon längst erkannt worden, aber erst **G o u i r a u d**⁴⁾

1) Nicht mit den Tonfiltraten.

2) Vgl. **E. S c h u l z e** und **C a s t o r o**, Zeitschr. physiol. Chem. 48, 1906. **E. S c h u l z e** ebenda 50. Nach **G o n n e r m a n n** (Pflügers Arch. 123, 1908) entsteht durch Einwirkung der Tyrosinase (aus Rübensäften) aus Tyrosin Brenzkatechin und aus diesem unter Mitwirkung von Ferrosalz und Tyrosinase die Farbe.

3) **B e r t r a n d**, Compt. rend. 137. 1271.

4) Compt. rend. ac. sc. 120. 887, 1895.

führte den Nachweis, daß der veränderte Wein durch Chamberlandfilter filtriert und mit Alkohol versetzt einen Niederschlag liefert, der in gesundem Wein dieselbe Veränderung bewirkt. Es handelt sich also um einen enzymatischen Prozeß, um die Wirkung einer „Oenoxydase“ (C a z e n e u v e ¹⁾). M a r c h a n d ²⁾ zeigte, daß dieses Enzym auch in gesundem Traubensaft vorkommt, aber in geringerer Menge; die reichliche Ansammlung des Enzyms ist sehr wahrscheinlich auf Mikroorganismen zurückzuführen; nach L a b o r d e ³⁾ erzeugt sie ausschließlich die *Botrytis cinerea*, derselbe Pilz, der durch sein Wachstum auf der Traube die Edelfäulnis des Weins verursacht (S. 281). *Aspergillus niger*, *glaucus*, *Penicillium* und andere Pilze bilden das Enzym nicht. P e g l i o n ⁴⁾ fand es aber auch bei der *Monilia fructigena*, die der Botrytis sehr nahe steht, wieder. Die Tatsache, daß nach der Ernte des Jahres 1900, die sehr unter der Botrytis zu leiden hatte, die Casse du vin im weitesten Umfange wieder auftrat, lieferte eine Bestätigung des L a b o r d e s c h e n Fundes. C a z e n e u v e studierte die Eigenschaften der Oenoxydase genauer. Sie entspricht in ihrer Wirkung auf die verschiedenen aromatischen Körper der Lakkase B e r t r a n d s (s. o.). Die O e n o x y d a s e unterscheidet sich aber von der Lakkase dadurch, daß sie außer den aromatischen Körpern auch Alkohol, Äther, ätherische Öle und Säuren oxydiert ⁵⁾. Ein vorzügliches Mittel gegen den Einfluß der Oenoxydase ist die s c h w e f l i g e S ä u r e, die den Wein ebenso wie Pasteurisierung schützt.

Das Rahnwerden tritt auch in Begleitung einer anderen Krankheit des Weines, beim „Bitterwerden“ der Rotweine (S. 280) als Begleiterscheinung auf. Ob die Erreger dieses Zustandes die schon von P a s t e u r angeschuldigten Bazillen, die sich im Bodensatz solcher Weine finden, sind, ist mehr als zweifelhaft. Nach den neuen Untersuchungen W o r t m a n n s ⁶⁾ wäre es vielmehr wieder die Botrytis cinerea oder andere von den faulen Beeren auf den Most übertragene Schimmelpilze, die durch Oxydation der in den Beerenhäuten enthaltenen Gerbsäuren die Bitterstoffe erzeugten. Nicht ausgeschlossen ist es übrigens, daß das Bitterwerden verschiedene Ursachen hat.

Die Bedeutung der Oxydasen für das Leben der Kleinwesen ist

1) Compt. rend. ac. sc. 124. 406 und 781, 1897.

2) Ebenda 120. 1426 und 121. 502.

3) Ebenda 122. 1074 und 125. 248.

4) Zitiert nach D u c l a u x, Microbiol. 4. 581.

5) Die *Monilia sitophila* W e n t s (S. 128) erzeugt Tyrosinase.

6) Landwirtsch. Jahrb. 1900.

dunkel, da sie für die Kraftlieferung und das Wachstum kaum in Betracht kommen. Vielleicht dienen sie als Schutzmittel¹⁾.

§ 160. Katalase. Die S. 467 erwähnte Katalase (L ö w²⁾) oder „Superoxydase“ (R a u d n i t z³⁾), d. h. das Enzym, das den Wasserstoffsuperoxyd und nur diesen — vermutlich nach der Formel $2\text{H}_2\text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ — zersetzt, ohne wie die Peroxydasen dabei aktiven Sauerstoff oder wie die Reduktasen (§ 161) aktiven Wasserstoff (?) zu entwickeln, bildet eine Art Übergang von den Oxydasen zu den Reduktasen, weswegen sie hier besprochen werden soll. Früher schrieb man die Fähigkeit zu dieser Zersetzung allen Fermenten zu. Die Katalasen sind im Pflanzen- und Tiergewebe weit verbreitet⁴⁾. Angaben über das Vorkommen der Katalase bei Bakterien finden wir bei G o t t s t e i n⁵⁾, L ö w e n s t e i n⁶⁾, und namentlich bei D. und M. R y w o s c h und J o r n s. Die R y w o s c h s⁷⁾ bestimmten die enzymatische Kraft der Bakterien dadurch, daß sie ihre Rasen von Agarplatten abgewogen (ca. 22—66 mg) in eine mit H_2O_2 -Lösung gefüllte Flasche brachten, diese mit einem Eudiometer verbanden und nach 6—8 Stunden die entwickelte Sauerstoffmenge feststellten. Sie schwankte je nach der Bakterienart von 7 ccm (auf 1 mg frische Bakterienmasse berechnet) bis 0,1 ccm und weniger. Bei Anaërobiern (Tetanus, Botulinus) war die Zersetzung nur in Spuren nachweisbar, bei den Vibrionen blieb sie ebenfalls sehr gering, desgleichen bei Typhus-, Paratyphus- und P f e i f f e r s c h e n Kapselbazillen. Am stärksten war sie bei Orange-Sarzine und weißer Hefe, von mittlerer Stärke bei Pneumonie-, Ozaena-, Milzbrand-, Prodigiosus-, Colibazillen, Streptokokken. Meist war schon in den ersten Stunden die Höhe der Gasentwicklung erreicht. J o r n s⁸⁾ fand die Katalase auch bei fast allen daraufhin geprüften Bakterien und Strahlenpilzarten. Unter 90 Arten fehlte sie vollständig nur bei

1) R a c i b o r s k i fand in Kulturversuchen mit verschiedenartigen Keimen keinen Einfluß der Oxydasen (B e h r e n s in L a f a r s Handb. 1. 671). S i e b e r beobachtete allerdings eine sehr kräftige Wirkung der Oxydasen tierischer Organe auf Diphtherie- und Tetanusgift (s. § 274). Nach E f f r o n t soll sich Hefe durch Oxydasebildung gegen zugesetzten Formaldehyd schützen, nach G i m e l gegen schweflige Säure (vgl. S. 188).

2) Bull. Departm. Agricult. Washington 1900, vgl. Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 177, 1903.

3) Zeitschr. f. Biol. 42.

4) Vgl. C h o d a t und B a c h, Ber. chem. Ges. 1902 ff. S e n t e r, Zeitschr. physik. Chem. 44, 1903.

5) V i r c h o w s Arch. 133, 1893.

6) Wien. klin. Woch. 1903. 50.

7) Zentr. Bakt. 44. 295, 1907.

8) Arch. f. Hyg. 67, 1908.

den *Bact. mallei*, *alcaligenes*, *indigoferum* und *Bac. geniculatus*; dem Grade nach — gemessen an der Gasentwicklung nach Mischung von wenigen Kubikzentimetern Bouillonkultur und 1 prozentiger Wasserstoffsuperoxydlösung oder durch Rücktitration des unzersetzten H_2O_2 mit Permanganatlösung — ist sie allerdings sehr verschieden, spärlich z. B. beim *Micr. intracellularis meningitidis*, *Bac. mycoides*, Milzbrand-, Typhus-, Paratyphus- und Tuberkelbazillus, den meisten Vibrionen und Strahlenpilzen, besser entwickelt bei *Strept. lacticus*, Coli- und Diphtheriebazillus, *Actinomyces chromogenes*, reichlich bei *Strept. pyogenes*, dem Schweinescuche- und Schweinepest-, *Proteus*-, *Pyocyaneus*- und Heubazillus, sehr reichlich beim *Prodigiosus* und Pseudotuberkelbazillus. Die Reaktion der Kultur schien keinen Einfluß zu haben, das Alter der lebenden Kultur auch nicht. Das letztere beeinflußt jedoch den Übertritt der Katalase in die Kulturflüssigkeit: in Filtraten ganz junger *Prodigiosus*kulturen war die Wirkung gleich Null, stieg mit dem Alter der Kultur und der Abnahme der lebenden Keime in ihr, blieb aber auch bei ganz alten Kulturen noch wesentlich hinter der ganzen Kultur zurück. J o r n s spricht daher von einer „Ekto-“ und „Endokatalase“. Ähnlich wie *Prodigiosus* verhält sich der *Pyocyaneus*, während der Bazillus der Pseudotuberkulose schon nach 3 Tagen nur Ektokatalase gab. Erhitzung der ganzen Kultur selbst auf 70° schien die Katalasewirkung nicht herabzusetzen, wohl wurde die Filtratwirkung dadurch geschädigt und nach 30 Minuten aufgehoben. Die Schnelligkeit der Zersetzung ist größer bei 17° als bei 0° , aber auch hier noch erheblich. Alkohol fällt das Enzym und schädigt es in gewissem Grade.

Die Bestimmung der Katalase in roher Milch kann dazu benutzt werden, über ihren Bakteriengehalt zu entscheiden, denn nach S e l i g m a n n und S m i d t verdankt die Milch ihre Katalase zum größten oder wenigstens zum großen Teil Bakterien (vgl. § 162). — Über das Vorkommen der Katalase bei P i l z e n ¹⁾ ist noch wenig bekannt, wahrscheinlich ist sie auch bei ihnen ebenso verbreitet wie bei den Bakterien. So fanden sie B a c h und C h o d a t ²⁾ im *Aspergillus niger*, S a i t o im *Aspergillus oryzae*, L o e w (s. o.), I s s a j e w ³⁾ u. a. in wässerigen und glyzerinigen Auszügen aus Hefe, E. B u c h n e r ⁴⁾ im Hefepreßsaft. Bei I s s a j e w finden sich auch nähere Angaben über die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit der Katalase von

1) Vgl. W e h m e r in L a f a r s Handb. 4. 259.

2) Zeitschr. f. Biol. 42.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 1904 und 44, 1905.

4) Zymasegärung S. 77.

der Konzentration des H_2O_2 und des Enzyms, von Salz-, Säure- und Alkalizusätzen. Säure und Jod zerstören die Hefekatalase.

Die Bedeutung der Katalasen für das Leben ist dunkel. Nach Löw sollen sie dazu dienen, das im Stoffwechsel entstehende schädliche Wasserstoffsuperoxyd immer sofort zu zerstören. Jedoch gedeihen Schimmelpilze bei 0,68% dieses Stoffes. Oxydasen und Katalasen hemmen sich gegenseitig nicht.

§ 161. Reduktion von Farbstoffen. Reduktasen. Die Farbstoffe, die fast sämtlich in die Gruppe der aromatischen (bzw. zyklischen) Substanzen gehören, besitzen für die Mikroorganismen selbst wohl keine Bedeutung, eine um so größere aber für unsere Kenntnis von ihnen, und zwar in erster Linie, weil die Bindungen, die sie mit ihnen eingehen, uns bekanntlich ihren Nachweis bedeutend erleichtern, ja, vielfach erst ermöglichen. Über diese Farbreaktionen haben wir schon im Kap. I gesprochen. Hier interessieren uns gewisse Veränderungen der Farbstoffe durch die Mikroben, die zwar auch für die Diagnostik Wert haben, vor allem aber auf die Stoffwechselvorgänge ein Licht zu werfen scheinen. Es sind keine tieferen Zersetzungen, sondern nur oberflächliche Umwandlungen, sie haben aber deswegen schon früh die Aufmerksamkeit erregt, weil sie mit einer *Entfärbung* einhergehen. Schon Helmholtz erklärte 1843 in seinen Untersuchungen über Fäulnis die Entfärbung des *Lackmus* durch Reduktion des Farbstoffes. Umfangreiche Untersuchungen über das Verhalten der Bakterien gegen diesen selben Farbstoff stellte zuerst Cahen¹⁾ an, mit der ausgesprochenen Absicht, ihr Reduktionsvermögen zu erforschen. Es zeigte sich dabei zunächst, daß alle verflüssigenden Bakterien die durch Lackmustinktur gefärbten Gelatine-Nährböden entfärbten. Die Entfärbung schritt mit der Verflüssigung fort, griff auch über die Verflüssigungsgrenze hinaus. Nach und nach kehrte an der Oberfläche, offenbar unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs, die Farbe zurück. In Lackmusbouillon trat die Reduktion bei höherer Temperatur, meist viel schneller und auch bei vielen nicht verflüssigenden Bakterien ein, einfaches Schütteln genügte, um die Farbe wieder erscheinen zu lassen; aber auch von selbst geschah das nach einiger Zeit, wenn das Wachstum zum Stillstand gekommen war. Nur wenige Bakterien, wie die Spirillen von Finkler-Prior und Deneke, reduzierten zwar bei niedriger, aber nicht bei höherer Temperatur, wahrscheinlich, weil sie besser bei ersterer wuchsen. Stark war die Reduktion des Lackmus durch Anaërobier. Doch stellte Cahen schon fest, daß eine *Beziehung des Lebens ohne Sauerstoff zur Lackmus-*

1) Zeitschr. f. Hyg. 2, 1887.

reduktion nicht besteht, da einerseits viele strenge Aërobier den Farbstoff reduzierten und andererseits manche fakultative Anaërobier, wie *Bac. typhi*, *Strept. pyogenes* und *Micr. tetragenus*, überhaupt nicht reduzierten. Die Bedeutung der Reduktionsprobe für die Diagnostik lag dagegen auf der Hand. Die Arbeiten von Roszaheghyi¹⁾, Spina²⁾, Behring³⁾, Kisatato und Weyl⁴⁾, Sommaruga⁵⁾ lehrten, daß man mit Erfolg auch andere Farbstoffe, wie Vesuvin, Gentianaviolett, Methylviolett, Methylenblau, Rosolsäure und Indigblau zum Studium der Reduktion verwenden kann und stellten eine Reihe von weiteren Einzelheiten fest. Allerdings haben sich die daraus gezogenen Schlüsse in der Folge nicht immer bestätigt, so z. B. nicht die am Milzbrand gewonnene Erfahrung Behrings, daß Reduktionsvermögen und Virulenz im umgekehrten Verhältnis zueinander stehen (Hahn und Cathcart s. u.). Wichtiger sind die Untersuchungen von Th. Smith⁶⁾, Rothberger⁷⁾, F. Müller⁸⁾ und besonders von Alfred Wolff⁹⁾, Cathcart und Hahn¹⁰⁾, wozu neuerdings noch Arbeiten von Carapelle¹¹⁾ und Wichern¹²⁾ traten. Man kann aus ihnen verschiedene Sätze ableiten.

1. Alle Mikroorganismen, Bakterien, Schimmelpilze und Hefen können Farbstoffe reduzieren, wenn auch der Grad ihres Reduktionsvermögens und die Reduzierbarkeit der Farbstoffe eine sehr verschiedene ist.

2. Im allgemeinen kann man sagen, daß einige Farbstoffe wie das Thionin und Methylenblau besonders leicht, andere wie Lackmus schwer und manche, wie das Neutralrot am schwersten reduziert werden. Viele Farbstoffe sind für die Reduktionsprobe ungeeignet, weil sie zu stark entwicklungshemmend wirken (Methylviolett), die meisten müssen mit Vorsicht — d. h. unter Berücksichtigung von Kontrollen — benutzt werden, weil sie schon durch die Nährböden angegriffen werden.

1) Zentr. Bakt. 2, 1887.

2) Ebenda.

3) Zeitschr. f. Hyg. 7, 1889.

4) Ebenda 8. 1890.

5) Ebenda 12, 1892.

6) Zentr. Bakt. 19. 181, 1896.

7) Ebenda 24. 513 und 25. 15, 1899.

8) Ebenda 26. 51 und 801, 1899.

9) Arb. pathol. Inst. Tübingen 3. 294, 1901.

10) Arch. f. Hyg. 44, 1902 und „Zymasegärung“ von Buchner und Hahn, 1903. 341.

11) Zentr. Bakt. 47. 545, 1908.

12) Arch. Hyg. 72, 1910. Vgl. auch Zeitschr. physiol. Chem. 57.

3. Ebenso könnte man die Mikroorganismen nach ihrem Reduktionsvermögen in eine Stufenleiter ordnen, an deren Spitze wegen ihrer besonderen Energie die strengen Anaerobier und auch der *Bac. coli* stehen. Am anderen Ende stehen die luftliebenden Bakterien wie der Milzbrandbazillus und die Choleraspirillen. Doch gilt diese Regel nur für den Fall, daß bei der Reduktionsprobe für Sauerstoffabschluß gesorgt ist, bei freiem Sauerstoffzutritt beobachtet man eine andere Reihenfolge.

4. Wenn die unter 2 und 3 ausgesprochenen Sätze auch eine gewisse praktische Bedeutung haben, so wird ihre Allgemeingültigkeit doch dadurch beschränkt, daß sie zahlreiche Ausnahmen erleiden, die durch ein e l e k t i v e s V e r h a l t e n der Mikroorganismen gegenüber einzelnen Farbstoffen bedingt sind (M ü l l e r , W o l f f). Während z. B. der *Bacillus typhi* und *coli* gewöhnlich ein gutes Reduktionsvermögen besitzt, der letztere dabei den ersteren meist übertrifft, wird das Orzein vom *Bac. typhi* stärker reduziert als vom *B. coli* (W o l f f) und das Neutralrot vom *Bac. coli* sehr kräftig, vom *Bac. typhi* aber gar nicht angegriffen (R o t h b e r g e r , W o l f f und viele andere Autoren). Das ist ein Beweis dafür, daß das R e d u k t i o n s - v e r m ö g e n der Mikroorganismen nicht e i n q u a l i t a t i v g l e i c h e s , a b e r q u a n t i t a t i v v e r s c h i e d e n e s , sondern e i n s p e z i f i s c h e s i s t. Zu einem ähnlichen Schlusse führen die Beobachtungen über die Reduktion der Nitrate, Sulfate, Selenite, Arsenikverbindungen usw., die wir später besprechen werden, und wohl auch die früher erwähnten Erfahrungen über die reduzierenden Leistungen der Bakterienleiber (S. 106). Ein genauer Vergleich dieser verschiedenen Reduktionsprozesse würde jedenfalls manche interessante Einzelheiten ergeben.

5. Die Beobachtung, daß durch Porzellan filtrierte Colikulturen keine reduzierenden Wirkungen entfalteten, hatte S m i t h zu dem Schlusse geführt, daß diese nicht durch gelöste Sekrete erzeugt sein könnten, sondern der Bakterienzelle anhafteten. Hiergegen kann mit Recht eingewandt werden, daß schon der Augenschein in Stich- und Strichkulturen, die mit reduzierbaren Farbstoffen versetzt sind, die allmählich eintretende Diffusion des reduzierenden Stoffes beweist. Allerdings kann man, wie H a h n und C a t h c a r t gezeigt haben, mit einfachen Aufschwemmungen der Zellen die stärksten Reduktionswirkungen erhalten, aber auch diese entstehen doch nur dadurch, daß die Zellen eben die wirksamen Stoffe ausscheiden. Nach denselben Forschern ist die Reduktion — also wohl die Bildung der reduzierenden Substanz — energischer, wenn die betreffenden Bakterien unter Sauerstoffabschluß gewachsen sind. Die Beschaffenheit der Flüssigkeit, in

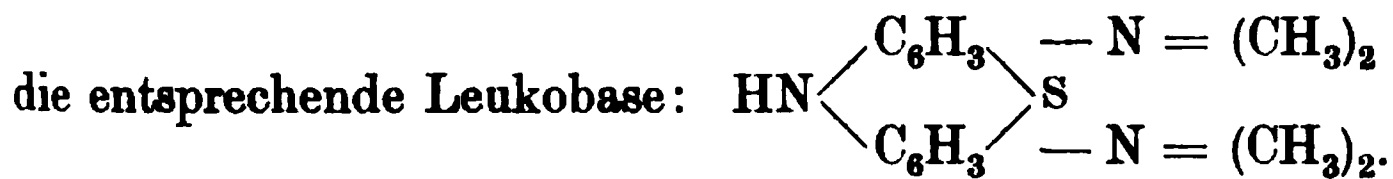
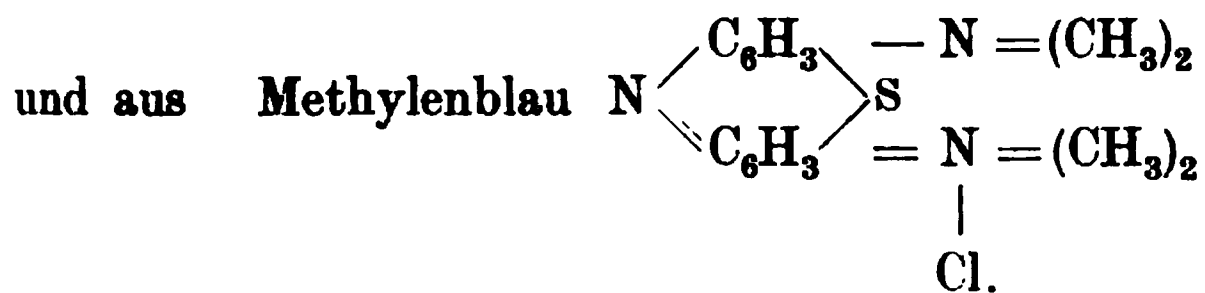
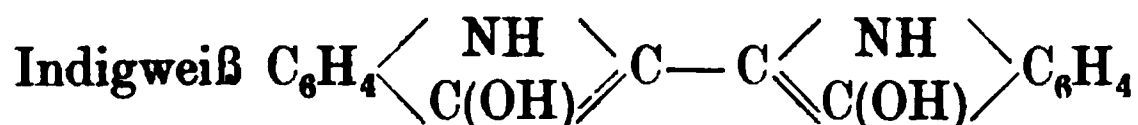
der sie aufgeschwemmt werden, ist insofern von Einfluß, als eine starke alkalische Reaktion, die Gegenwart von organischen Stoffen (milchsaurem Ammon, Fleischextrakt oder Bouillon) und in gewissem Grade auch der Salzgehalt die Reduktion begünstigt. Die Darstellung der reduzierenden Substanz aus dem Zellkörper gelang *H a h n* bei der Hefe sehr leicht: der Hefepreßsaft enthält sie, ebenso die nach dem *A l b e r t* schen Verfahren abgetötete Dauerhefe. So reduzieren z. B. 10 ccm Preßsaft allmählich 0,14 g Methylenblau, das in 1 proz. Lösung zugesetzt wurde¹⁾. Die reduzierende Wirkung ging dem Saft ebenso schnell verloren wie die Gärkraft, d. h. in wenigen Tagen bei niedriger Temperatur, und nach einer Stunde bei 55—60°. Diese geringe Widerstandsfähigkeit des reduzierenden Prinzips — vielleicht können wir sagen der „Reduktase“ — zeigt sich bei den Bakterien noch in höherem Grade. Bisher gelang ihre Darstellung durch Zerreiben und Auspressen der Zellkörper noch nicht. Die Verfahren, die eine Abtötung der Bakterien bewirken, vernichten gewöhnlich auch die Reduktion. Doch gelangten *C a t h c a r t* und *H a h n*¹⁾ zum Ziel, wenn sie die Bakterienkörper mit Azeton behandelten und die trockene Masse im Vakuum allmählich auf 107° erhitzten. Die Präparate erwiesen sich als steril und besaßen doch noch eine gewisse Reduktionskraft. Daß das Leben der Zellen zur Reduktion nicht unumgänglich nötig ist, hatte schon früher *S m i t h* aus einigen Erhitzungsversuchen geschlossen; *C a t h c a r t* und *H a h n* erwiesen es auch durch Zusatz von Chloroform, Toluol sowie von Salzen und Zucker in starker Konzentration. 50 prozentige Rohrzuckerlösungen scheinen ihre besondere Wirksamkeit ihrer Fähigkeit, die Bakteriensubstanz aufzulösen, zu verdanken. Filtrationsversuche sind außer von *S m i t h* anscheinend nur von *D e u t s c h*²⁾ und *C a r a p e l l e*, und zwar nur von ersterem mit etwas besserem Erfolge unternommen worden als von *S m i t h*. Die Unwirksamkeit oder schwache Wirksamkeit des Filtrats erklärt sich vielleicht nach *M ü l l e r* durch den Einfluß des Sauerstoffs beim Filtrieren. Auch durch wiederholtes Schütteln mit Luft kann man die reduzierenden Stoffe der Kulturen zerstören. Keimfrei ausgeschleuderte Kulturflüssigkeiten besitzen nach *C a r a p e l l e* übrigens auch keine reduzierende Kraft. Dagegen glaubte er aus Versuchen mit Methylenblaulösung, die keimfrei in Zelloidinröhrchen eingeschlossen und in Kulturen von Bakterien eingebracht worden war, auf ein schwaches Reduktionsvermögen von löslichen Stoffwechselerzeugnissen schließen zu dürfen. Ähnliche Beobachtungen machte *W i c h e r n* an Agar-

1) Über die Messung der Reduktionskraft von Bakterien s. *C a t h c a r t* und *H a h n* S. 479 und *W i c h e r n* S. 478.

2) Kongreßbericht, Paris 1900 (nach *C a t h c a r t* und *H a h n*).

kulturen von Colibazillen, die er durch eine keimfreie Agarschicht von der zu reduzierenden Flüssigkeit trennte.

6. Daß es sich bei der Entfärbung der Farbstoffe durch die Mikroorganismen wirklich um eine Reduktion handelt, wird dadurch für die gewöhnlichen Fälle sehr wahrscheinlich, daß die Farbe bei Berührung mit Luft wieder zurückkehrt. Man wird sich, obwohl direkte Analysen fehlen, den Vorgang so vorzustellen haben, daß aus dem Farbstoff das sogenannte Leukoprodukt entsteht, so z. B. aus



In beiden Fällen wird die Veränderung bewirkt durch Eintreten von Wasserstoffatomen (nicht durch Entziehung von Sauerstoff, wie bei anderen Reduktionen), die bei Berührung mit dem Luftsauerstoff wieder entfernt werden. Woher der reduzierende Wasserstoff entnommen wird, wissen wir nicht, vermutlich sind es aber organische Substanzen, da solche die Reduktion begünstigen. Daß man mit dem Deus ex machina, den man früher in solchen Fällen auftreten ließ, dem „Wasserstoff in statu nascendi“, nichts beweist, ist sicher, schon aus dem Grunde, weil die gleichen Bakterien in demselben Nährboden sich gegenüber zwei Farbstoffen in ihrer Reduktionskraft entgegengesetzt verhalten können (s. o.). Wir werden uns vorläufig mit der Annahme begnügen müssen, daß der Wasserstoff unter dem Einfluß spezifischer Enzyme aus der einen oder anderen Verbindung auf die Farbstoffe übertragen wird. Wäre die fragliche Verbindung Wasser, so würde bei dem Prozeß der Reduktion Sauerstoff verwendbar für andere Zwecke der Zelle. Früher hat man in der Tat die Reduktion als ein Zeichen des „Sauerstoffhungers“ (Ehrlich¹⁾) der Zelle aufgefaßt. Dann

1) Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus, 1885.

müßten aber doch strenge Aërobier, die auf den Sauerstoff angewiesen sind, stärker reduzieren als Anaërobier, die andere Kraftquellen durch die Gärungen genügend zur Verfügung haben, und für die Sauerstoff geradezu ein Gift ist. Viel eher würde man es verstehen, wenn das Reduktionsvermögen, das sich in den Versuchen mit Farbstofflösungen zeigt, mit den normalen Reduktionen, die im Leben der Mikroorganismen so große Bedeutung haben, indem sie z. B. den zum Aufbau ihrer Leiber nötigen Schwefel und Stickstoff aus schwefelsaurem und salpetersaurem Salze beschaffen, zusammenhinge, gewissermaßen ihr Indikator wäre. Von einem Parallelismus beider Arten von Reduktionen ist aber nichts bekannt (§ 197 ff., § 211 ff.).

Die Prüfung des Reduktionsvermögens der Mikroorganismen erfolgt, wie aus dem Text ersichtlich, in einfacher Weise dadurch, daß man eine der genannten Farbstofflösungen in kleinen Mengen den verschiedenen Nährböden zusetzt. Jedes hat seine bestimmten Vorzüge und Nachteile. Die Bouillon gestattet vielfach (bei 37°) am schnellsten den Nachweis, ist aber (ohne Paraffinölüberschichtung s. u.) bei schwach reduzierenden Bakterien nicht brauchbar, weil sie sich zu schnell wieder oxydiert. Agarstichkulturen bieten ähnliche Vorteile, gestatten außerdem, weil sie fest bleiben, das allmähliche Fortschreiten der Reduktion zu beobachten, reduzieren aber selbst in ziemlich kräftigem Grade die Farben, so daß ungeimpfte Kontrollröhrchen stets nötig sind. Besonders kräftig ist die Reduktion in den „Schüttelkulturen“ R o t h b e r g e r s, d. h. Agarröhrchen, die in noch flüssigem Zustande geimpft werden. Da Gelatine gewöhnlich bei niedriger Temperatur benutzt wird, zeigt es nur kräftige Reduktionen an.

Am meisten verwandt wird die L a c k m u s t i n k t u r in Zusätzen von 10%. Sie hat den Vorzug, daß sie nicht nur die Reduktion durch Entfärbung, sondern auch Reaktionsveränderungen durch Umschlagen der violetten Farbe in Rot oder Blau anzeigt. Der Lackmus ist wie die Orseille aus Flechten durch eine Art Gärung (S. 461) gewonnen und ein Gemisch aus Farbstoffen, deren Konstitution nicht genau bekannt ist. Der färbende Hauptbestandteil ist das Orzin, ein Dioxytoluol. Aus ihm entsteht durch Oxydation das Orzein, das in 1 prozentiger Lösung verwandt werden kann (W o l f f).

Leichter reduzierbar als Lackmus ist M e t h y l e n b l a u, das als salzsaures Zinkdoppelsalz in den Handel kommt, und von dem 1—4 Tropfen einer 1/2 prozentigen Lösung auf jedes Reagensröhrchen zugesetzt werden. Entgegen der Angabe von S p i n a unterliegt auch Methylenblauagar der Selbstreduktion. Nach W i c h e r n gestattet die Titrierung mit Titanlösung eine genaue Bestimmung der Reduktionsgröße. Während der Hauptwachstumsperiode sollen je 1000 Koli- und Typhusbazillen in mit Paraffinöl überschichteter Bouillon 28—30 Millionstel Milligramm stündlich reduzieren. Reduktionsgröße und Generationadauer stehen im umgekehrten Verhältnis.

I n d i g b l a u (Indigotin), das Erzeugnis der Indigogärung (S. 460), ist selbst unlöslich und kommt zur Verwendung als indigodisulfosaures Natrium (Indigokarmin). 1/2000 davon werden in Agar gelöst. Die Brauchbarkeit dieses Farbstoffs als Indikator des Reduktionsvermögens und des-

halb auch zur Differentialdiagnose wurde von *Kitasato* und *Weyl* (s. o.) und von *Germano* und *Maurea*¹⁾ im Laboratorium des Verfassers festgestellt. Es muß aber beachtet werden, daß die Entfärbung des Indigos auch durch Oxydation bewirkt werden kann, worauf ja eine Bestimmungsmethode der Salpetersäure beruht. Die Entscheidung darüber, ob Reduktion oder Oxydation vorliegt, läßt sich aber leicht liefern: wenn die Luft, wie es in der Bakterienkultur die Regel ist, die Farbe zurückruft, handelt es sich um erstere. Wenn die Farbnährböden älter werden, scheint sich der Farbstoff durch Oxydation allerdings zu zersetzen. Daher warnen wohl *Smith* und *Müller* vor ihrer Benutzung²⁾.

Neutralrot (Toluylenrot, eine Azinfarbe) wird seit *Rothberger* mit großem Erfolg neuerdings zur Differentialdiagnose zwischen *Bac. typhi* (dysenteriae und pseudysenteriae) und *coli* (paratyphi) verwandt³⁾, weil die Unterschiede in der Tat sehr ins Auge fallen: Zusatz von 1 — 2 Tropfen einer 2prozentigen wässerigen Lösung auf ein Röhrchen gibt dem Nährboden eine dunkelrote Farbe, die durch Typhus usw. nicht verändert wird, während *B. coli* eine grünlich gelbrote Fluoreszenz und völlige Entfärbung hervorruft. Ein starker Zuckergehalt beeinträchtigt die Reaktion nicht. Man kann in solchen Nährböden vielmehr sehr schöne Reduktion und Vergärung nebeneinander beobachten.

Andere Farbstoffe sind wohl zu entbehren (vgl. namentlich *Rothberger*). Über gefärbte Nährböden zum Säurenachweis s. S. 345.

Für manche Zwecke ist **Luftabschluß** der Kulturen zu empfehlen, die durch Überschichtung mit flüssigem Paraffin oder durch Kultur im Gärungsröhrchen zu erreichen ist. Nach unseren Erfahrungen sind einfache Stichkulturen am geeignetsten. Die oberste Schicht behält dabei mehr oder weniger ihre Farbe oder gewinnt sie wenigstens bald wieder, wenn die Bakterien den Nährboden nicht mit einer fest schließenden Decke überziehen.

Zur genauen Messung der Reduktionskraft eignet sich außer dem *Wichernschen* (s. o. S. 478) das von *Cathcart* und *Hahn* empfohlene Verfahren. Es setzt freilich die Verwendung großer Bakterienmassen voraus. Diese werden auf Agarplatten frisch gewonnen, davon vorsichtig abgehoben, feucht gewogen und in Mengen von 0,2g zu je 10ccm Bouillon + Methylenblau gesetzt. 1 ccm ein 0,1 proz. Lösung wurde z. B. reduziert von *Staphylococ. pyogenes aureus* in 30 Sekunden, von *Bac. coli* in 140 Sekunden, von *Bac. aërogenes* in 70 Sekunden; 1 ccm einer 1 proz. Lösung von *Prodigiosus* in 7 Minuten 35 Sekunden, von *Bac. megatherium* noch nicht in einer halben Stunde. Bouillonkulturen sind viel weniger wirksam als Aufschwemmungen. Alte Kulturen reduzieren viel schwächer. Die günstigste Temperatur für die Reduktion ist im allgemeinen 37°, ausnahmsweise (bei Staphylokokken) 50—55°.

Es ist anzunehmen, daß das Reduktionsvermögen, wie andere Bakterieneigenschaften der Variabilität unterworfen ist. So erklärt es sich, daß *Behring* bei virulenten Milzbrandkulturen andere

1) *Zieglers Beiträge* 12, 531, 1893.

2) Über Bakterien-Farbstoffe und ihr Verhalten zum Sauerstoff vgl. § 253 u. 254.

3) Vgl. auch *Scheffler*, *Zentr. Bakt.* 28, 1900.

Ergebnisse hatte als bei abgeschwächten. Die von ihm beobachtete Beziehung zwischen Virulenz und Reduktionsvermögen (s. o.) fanden aber Cathcart und Hahn bei Cholerakulturen nicht wieder. Ebenso wenig konnte ein Zusammenhang zwischen Giftigkeit und Reduktionsvermögen festgestellt werden. Diphtherie- und Tetanusgiftpräparate reduzierten nicht, wohl eine Lösung von Schlangengift.

Während D e u t s c h durch Behandlung von Tieren mit filtrierten Kulturen des *Micrococ. ureae* ein Serum mit antireduzierenden Eigenschaften erhalten haben wollte, gelang das C a t h c a r t und H a h n nicht.

§ 162. Reduktionen in Milch und Abwasser. Die Reduktion von Farbstoffen in der Milch kann zur Bestimmung des Bakteriengehalts benutzt werden (M. N e i ß e r und W e c h s b e r g ¹⁾, S m i d t ²⁾, P. Th. M ü l l e r ³⁾). Man nimmt dazu am besten reine Methylenblaulösung, weil nur diese von frischer, keimfrei gewonnener Milch nicht oder erst nach sehr langer Zeit entfärbt wird. Das S c h a r d i n g e r s c h e Reagens⁴⁾, das neben Methylenblau (5 ccm gesättigter alkoholischer Lösung und 190 ccm aq. dest.) noch Formalin (5 ccm) enthält, wird auch durch bakterienfreie Milch (bei Zusatz von 1 : 20) in wenigen Minuten bei 40—45° entfärbt, sofern die Milch ungekocht (bzw. nicht auf 80° erhitzt) ist und ist deshalb zur Unterscheidung gekochter und ungekochter Milch empfohlen worden ⁵⁾.

Man hat ferner versucht, die Reduktionsfähigkeit eines A b w a s s e r s für Farbstoffe wie Methylenblau zur Beurteilung seiner Fäulnisfähigkeit zu benutzen⁶⁾, indessen ist das nach S e l i g m a n n ⁷⁾ auf Grund einzelner Prüfungen nicht möglich. Wiederholte Untersuchungen eines und desselben Abwassers zu verschiedener Zeit auf seine Reduktionskraft gestatten dagegen ein Urteil darüber, ob die

1) Münchn. med. Wochenschr. 1900. 37.

2) Hyg. Rundschau 1904, 23.

3) Arch. f. Hyg. 56, 1906.

4) Zeitschr. f. Untersuchung von Nahrungsmitteln 1902.

5) S m i d t (vgl. auch Arch. f. Hyg. 58) nimmt deswegen in der Milch selbst ein auf das Formalin katalytisch wirkendes Ferment („Aldehydkatalase“) an, das den Bakterien der Milch fehlen soll, während diese selbst Reduktasen bilden. Über die entgegenstehenden Ansichten S e l i g m a n n s (Zeitschr. f. Hyg. 50 u. 52) und die übrige Literatur über Reduktion in der Milch s. bei S m i d t, ferner bei B r a n d (Münchn. med. Wochenschr. 1907, 17). S e l i g m a n n (Zeitschr. f. Hyg. 58, 1908) hält aber neuerdings wieder seinen Satz, daß die bisher bekannten Reduktionsvorgänge in frischer wie in älterer Milch bakterieller Natur seien, aufrecht.

6) S p i t t a und W e l d e r t, Mitteil. aus der königl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwasserbeseitigung 1906, H. 6.

7) Zeitschr. f. Hyg. 56, 1907.

bakteriellen Zersetzungen im Wasser zu- oder abnehmen: im ersteren Falle erhält man eine ansteigende, im letzteren eine abfallende „Reduktionskurve“.

§ 163. **Synthesen von Glykosiden und aromatischen Stoffen.** Das durch dieselben Enzyme, die Glykoside spalten, auch solche aus den Spaltungsprodukten gebildet werden können, mit anderen Worten, daß diese wie andere Fermentreaktionen umkehrbar sind, haben *Emmerling*¹⁾ für das Amygdalin und die Hefenmaltase (§ 154), *Wisser*²⁾ für das Salizin und das Emulsin nachgewiesen. Ob derartige Vorgänge aber bei den Mikroorganismen häufig vorkommen, ist unbestimmt, da wir über die Bildung von Glykosiden durch sie unter natürlichen Bedingungen nur wenig wissen. Nach *Gabrilowitsch*³⁾ soll der Giftstoff des „trunkenen“ Getreides ein stickstoffhaltiges Glykosid sein, das von dem Pilz *Fusarium roseum* auch in Reinkulturen entwickelt werde. Zweifelhaft ist die Angabe *Weils*⁴⁾, das Solanin der Kartoffeln werde von seinem *Bacterium solaniferum colorabile* und *non colorabile* erzeugt, denn *Wintgen*⁵⁾ konnte sie nicht bestätigen und von *Morgestern*⁶⁾ findet gesunde Kartoffeln ebenso reich an Solanin wie kranke, schreibt auch dem Solanin eine große Widerstandsfähigkeit gegen Bakterienwirkungen zu. Die Möglichkeit der Bildung von Glykosiden durch Bakterien wird aber auch dadurch nahe gelegt, daß sie auf gewöhnlichen Nährböden manche **Riechstoffe** bilden, die aus Glykosiden zu entstehen pflegen (s. o. § 153). Die gleiche Bildungsart wäre für die wohl mindestens teilweise zu den aromatischen Stoffen gehörenden **Farbstoffe** der Bakterien denkbar (§ 253).

Für die aromatischen Stoffe, ob sie nun Bestandteile von Glykosiden sind oder nicht, ist die einzige Quelle, die wir bisher sicher kennen, der Abbau des Eiweißes (Kap. IX). Da Eiweiß auch aus einfachsten Verbindungen aufgebaut werden kann, gilt dasselbe von seinen aromatischen Kernen. Über die Art und Weise, wie sie entstehen, ist aber nichts bekannt.

Von der Bildung der Humusstoffe haben wir schon früher gesprochen (§ 118).

1) Ber. deutsch. chem. Ges. 34. 3810, 1901.

2) Zeitschr. physikal. Chem. 52, 257, 1905.

3) Ref. Chem. Zeitg. Repert. 1907. 156 (nach *Behrens* in *Lafars Handb.* 1. 645).

4) Arch. f. Hyg. 38, 1900, Arch. f. Pharmazie 245, 1906.

5) Zeitschr. f. Unterschg. v. Nahrungsmitteln, 1906.

6) Landwirtschaftl. Versuchsstation. 65, 1907.

Kapitel IX.

Wandlungen der Eiweißkörper.

§ 164. **Einleitung.** Wenn wir uns jetzt den Umwandlungen zuwenden, die die stickstoffhaltigen Substanzen, und zwar in erster Linie die Eiweißkörper, im Stoffwechsel der Mikroorganismen erfahren, so dürfen wir uns nicht verhehlen, daß die Aufgabe, diese Umwandlungen erschöpfend darzustellen, eine sehr viel schwierigere ist, als diejenige war, die wir in den vorstehenden Kapiteln zu erledigen hatten. Handelt es sich doch um sehr verwickelt gebaute Stoffe, über deren Zusammensetzung wir zudem trotz den Arbeiten E. F i s c h e r s u. a. vorläufig noch ziemlich mangelhaft unterrichtet sind. Das ist um so bedauerlicher, als die Eiweißkörper den wichtigsten Bestandteil der gesamten organischen Substanz und den größten Teil der tierischen Substanz ausmachen und als Nahrungsstoffe für die allermeisten Mikroorganismen von Bedeutung, für viele, wie wir § 32 gesehen haben, unentbehrlich sind.

Daß manche lösliche Eiweißstoffe, so wie sie sind, von den Mikroorganismen aufgenommen werden, haben wir keinen Grund zu bezweifeln, ob es aber solche gibt, die nachträglich keine weitere Veränderung erfahren, ist mehr als zweifelhaft. Denn wenn auch das Protoplasma im wesentlichen aus „Eiweiß“ besteht, so ist doch „lebendes“ Eiweiß nicht dasselbe wie totes, ja das Eiweiß jeder Spezies von Organismen scheint besondere Eigentümlichkeiten, die sog. „Spezifität“, zu besitzen, die es durch die „Assimilation“ erhält (vgl. § 69 221 u. 334). Einen klaren chemischen Ausdruck dafür besitzen wir aber noch nicht.

Feste Eiweißkörper können nicht als solche der Ernährung dienen, sondern müssen durch einen Verflüssigungsprozeß dazu vorbereitet werden, ebenso viele der löslichen, aber schwer diffundierbaren Eiweißstoffe. Bekanntlich besorgen dieses Geschäft bei den höheren Organismen die proteolytischen (oder peptonisierenden) *V e r d a u u n g s - f e r m e n t e*. Bei den Mikroorganismen (§ 165 u. 166) finden wir sie, und zwar teils außerhalb, teils innerhalb der Zellen wieder. Seit langem wird die Proteolyse der Verflüssigung und Hydrolyse der Polysaccharide

an die Seite gestellt (§ 60, § 69—83a). Man nahm also zunächst an, daß das komplizierte Eiweißmolekül unter Wasseraufnahme in einfachere Moleküle, die sogenannten Albumosen und Peptone gespalten werde, ebenso wie die Stärke durch Diastase in Dextrin und Maltose zerfalle. Die Vergleichen wurde noch weiter geführt: wie die Disaccharide durch Invertase, Maltase und andere hydrolytische Enzyme in die einfachen Zucker gespalten werden, so zerlegen Trypsin, Erepsin, Endotryptase die Albumosen und Peptone in Aminosäuren und die übrigen einfachen Körper, aus denen das Eiweißmolekül zusammengesetzt ist. Daß hier wirklich im wesentlichen Hydrolysen vorliegen, ist aber erst durch E. F i s c h e r s Arbeiten¹⁾ über den Auf- und Abbau des Eiweißes bewiesen oder besser gesagt sehr wahrscheinlich gemacht worden. Es ist nämlich nicht nur gelungen, die einzelnen Aminosäuren miteinander in säureamidartige Verbindungen, die sogenannten Di-, Tri- und Polypeptide zu vereinigen und diese durch Säuren, Trypsin usw. unter Wassereintritt wieder in die betreffenden Aminosäuren zu zerlegen, sondern auch nachgewiesen, daß diese in ihren Reaktionen auch sonst Peptonen und Albumosen ähneln. Schließlich sind die Peptide auch aus den durch Verdauung von Eiweiß erhaltenen Gemischen zu isolieren. Man könnte daraus fast den Schluß ziehen, daß die sogenannten Albumosen und Peptone der Hauptsache nach nichts weiter wären als solche Polypeptide, und daß die Eiweißkörper selbst aus sehr langen, durch ihre Amid- und Säuregruppen verbundenen Ketten von Aminosäuren beständen, die durch fortschreitende Hydrolyse in Polypeptide und endlich in Aminosäuren zerfallen. Bisher sind Polypeptide zwar noch nicht aus Kulturen von Mikroorganismen dargestellt worden, wohl aber oft Aminosäuren, und es liegt kein Grund vor, zu bezweifeln, daß die Lösung der Eiweißkörper durch sie in ähnlicher Weise erfolgt, wie durch die tierischen und pflanzlichen Fermente, Säuren usw.

Mit der hydrolytischen Spaltung des Eiweißes ist es aber nicht getan. Bei der sogenannten Fäulnis und auch bei anderen nicht unter Bildung stinkender Erzeugnisse erfolgenden Zersetzungen durch Bakterien und Pilze begegnen wir tieferen Spaltungen des Eiweißmoleküls (§ 167—175) mit Bildung von Ammoniak und Aminen, Kohlensäure, Fettsäuren und aromatischen Säuren, Schwefelwasserstoff und Sumpfgas, Phenol, Skatol, Indol u. a. m. Man ist berechtigt,

1) Vgl. E. F i s c h e r, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine, zusammengestellt aus dem Ber. chem. Ges. 1899—1906 Berlin 1906, C o h n h e i m, Chemie der Eiweißkörper 2. Aufl., 1904, A b d e r h a l d e n, Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der speziellen Eiweißchemie 1909.

diese Stoffe von Zerlegungen der Aminosäuren, die ohne Beteiligung des Luftsauerstoffs erfolgen, herzuleiten, die Prozesse, aus denen sie entstehen, den früher besprochenen Spaltungsgärungen der Kohlenhydrate (§ 84—117), Fettsäuren (§ 139—148) usw. an die Seite zu stellen, und daher von Ammoniak-, Fettsäure- und anderen Gärungen des Eiweißes zu sprechen. Die Zurückführung derselben auf Enzyme („Aminazidasen“) scheint sogar nach neueren Erfahrungen möglich zu sein (§ 166 u. 169). Wie bei anderen Spaltungsgärungen wird man daran denken dürfen, daß sie im allgemeinen nicht der Assimilation, sondern der Lieferung von Betriebskraft dienen. Doch zeigt das Studium der Wärmeverhältnisse, daß die Sache gerade bei den Spaltungsgärungen der Eiweißkörper nicht so einfach liegt, wie bei denen der Kohlenhydrate (§ 231).

Zwei Arten von Spaltungen, bei denen Ammoniak entsteht, erfordern eine besondere Betrachtung. Erstens geht schon die hydrolytische Spaltung des Eiweißes durch Trypsin usw. mit der Bildung von wechselnden Mengen (0,4—4,0%) Ammoniak einher. Da die Hydrolyse der Aminosäuren und Peptide dergleichen nicht fertig bringt, muß der „Amidstickstoff“ einer anderen Quelle entstammen. Man könnte annehmen, daß er aus Säureamiden, wie das Asparagin eines ist, abgespalten würde, in der Tat steht die Menge des Amidstickstoffs in einer gewissen Beziehung zu dem Gehalt der Eiweißkörper an Aminodikarbonsäuren (Asparagin- und Glutaminsäure), und die Spaltung des Asparagins in Ammoniak und Asparaginsäure gelingt nicht nur leicht durch Hydrolyse mit Säuren, sondern auch durch ein Enzym des *Proteus* und *Pyocyaneus* (§ 169). In jedem Falle wird man also nachzuforschen haben, ob die Quelle der Ammoniakbildung durch Mikroorganismen in einem ähnlichen Vorgange oder in der Abspaltung des fester gebundenen Stickstoffes gesucht werden muß.

Eine von der Fäulnis abweichende Zersetzung der Aminosäuren ist von F. Ehrlich entdeckt worden. Wir haben schon früher die Bildung des Amylalkohols und anderer Alkohole durch Hefe aus dem Leuzin und anderen Aminosäuren erwähnt (§ 90). Bei ihr entsteht nebenher Kohlensäure und Ammoniak, der letztere wird aber nicht frei, sondern von der Hefe als Stickstoffnahrung verbraucht. Wir haben hier also, wenn man will, zwar eine Gärung, aber eine solche, die nicht nur Kraft, sondern auch Baustoffe zu liefern bestimmt ist. Man könnte sie daher der Spaltung gewisser Glykoside an die Seite stellen, wenn es auch noch nicht geglückt ist, das entsprechende Enzym darzustellen (§ 173). Übrigens wird auch sonst wohl nicht selten die Spaltung der Aminosäuren dem Stoffersatz dienen, da ja die zahlreichen Aminosäuren des Eiweißes bei Ernährung der Mikroben z. B. mit einer

einigen Aminosäure nicht gut ohne tiefere Spaltung der letzteren aufgebaut werden können (§ 231).

Dasselbe Ziel wie die Spaltungsgärungen, die Lieferung von Betriebsenergie, erreichen auf einem anderen ergiebigeren Wege die *Oxydationen*, d. h. die Zersetzungen der Eiweißkörper, bei denen sich der Sauerstoff der Luft beteiligt (§ 176). Bisher sind diese Prozesse, die auf luftliebende Kleinwesen zurückzuführen sind und die man unter dem bekannten Namen der „Verwesung“ zusammengefaßt hat, noch nicht ausreichend studiert worden. Sie scheinen sich regelmäßig mit Spaltungen zu verbinden. Daß unvollständige, aber umfangreiche Oxydationsvorgänge hier mit unterlaufen, die den Namen von *Oxydationsgärungen* verdienen, ist bekannt, ja es wiederholt sich hier sogar die Oxalsäuregärung, die wir schon früher kennen gelernt haben (§ 122).

Reduktionsprozesse kommen zwar im Verlaufe der Fäulnis vielfach vor, aber sie sind wie bei allen Spaltungsgärungen stets verbunden mit Oxydationen¹⁾.

Kondensationen, *Ester-* und *Anhydridbildung* von Aminosäuren und Peptiden sind im Stoffwechsel der Mikroorganismen wohl ebenso verbreitet wie in dem der höheren Organismen. Sie stellen die einfachsten Synthesen (s. u.) vor. Daß dabei dieselben Enzyme, die der Hydrolyse dienen, eine Rolle spielen, kann man bisher nur vermuten.

Sicher nachgewiesen sind Enzyme bei einem *Koagulationsvorgange*, dessen eigentliche Bedeutung man freilich noch nicht genügend kennt, nämlich bei der *Labgerinnung* (§ 177). Man hat versucht, auch diesen Prozeß als eine Kondensation zu betrachten, doch spricht außer anderem der Umstand dagegen, daß die Labgerinnung stets von der Proteolyse gefolgt ist. Sie scheint also nichts anderes zu sein als ein Vorgang, der die Verdauung vorbereitet.

Synthesen kommen für die eigentlichen Eiweißkörper kaum in Frage, weil sie selbst schon den Höhepunkt der organischen Synthese bedeuten, um so mehr aber für die Abkömmlinge der Eiweißkörper, die Aminosäuren und Peptide. Sie gehören wohl in das Gebiet der schon erwähnten Anhydridbildungen usw.

Der Aufbau der Aminosäuren selbst, aus denen wahrscheinlich doch alles Eiweiß hervorgeht, beschäftigt uns an anderer Stelle. Dort werden wir auch das wenige, was man über die Umwandlung der Eiweißkörper in Fette und Kohlehydrate weiß, mitteilen (§ 229—231).

1) Über die Schwefelwasserstoff- und Merkaptanbildung aus Eiweißkörpern vgl. § 205 u. 206.

§ 165. **Proteolytische (Verdauungs-)Enzyme.** Das Vorkommen proteolytischer Enzyme bei Mikroorganismen war von vornherein durch die Beobachtung sehr wahrscheinlich gemacht, daß viele von ihnen imstande sind, Gelatine und andere feste Eiweißkörper zu verflüssigen und Spaltungsprodukte zu bilden, die denen der Eiweißverdauung mehr oder weniger nahestehen. Der sichere Beweis wurde aber erst durch *Bitter*¹⁾ geliefert. Er fand, daß Kulturen des *Spirill. cholerae*, die durch halbstündige Erhitzung auf 60° abgetötet waren, Gelatine verflüssigten. *Senger, Jerosch, Rietsch* und *Sternberg*²⁾ bewiesen das gleiche für verschiedene andere sogenannte „verflüssigende“ Bakterien und stellten teilweise schon das Ferment durch Fällung mit Alkohol dar. Am ausführlichsten waren die Untersuchungen von *Fermi*³⁾, dem die Ausschaltung der lebenden Bakterien nicht nur durch Erhitzung auf 56—60°, sondern auch durch Zusatz von Sublimat, Karbol- und Salizylsäure oder Filtrieren durch Porzellan gelang. Aus Gelatinekulturen erhielt *Fermi* dann die Enzyme, nachdem er durch verdünnten Spiritus den Hauptteil der beigemengten Stoffe beseitigt hatte, durch Fällung mit absolutem Alkohol. Auch durch Ausziehen von Kartoffelkulturen ließen sich bemerkenswerterweise wenigstens in einem Teil der Fälle ziemlich kräftige Enzyme gewinnen. Dargestellt wurden die Enzyme von *Fermi* bei *Microc. asciformis*, *Bac. prodigiosus*, *anthracis*, *subtilis*, *ramosus*, *megatherium*, *pyocyaneus*, *Spirillum cholerae*, *Finkler-Prior*, *Miller*, *Deneke* und einem Schimmelpilz, dem *Trichophyton tonsurans*. Zur Prüfung der proteolytischen Kraft benutzte *Fermi* im allgemeinen eine 7prozentige Lösung von Gelatine in gesättigtem Thymolwasser. Die Enzyme des *Spir. cholerae*, und *Miller*, des *Bac. prodigiosus* und namentlich des *Spir. Finkler-Prior* wirkten auch lösend auf Fibrin, die übrigen nicht. Dem gegenüber ist die Angabe von *Bienstock*⁴⁾ nicht recht zu verstehen, daß kein einziges der von ihm geprüften zahlreichen aëroben oder fakultativ anaëroben Bakterien imstande gewesen sei, das Fibrin selbst durch ihre Lebenstätigkeit anzugreifen. Die lösende Wirkung der Bakterienenzyme auf das Fibrin wird übrigens gestört durch die Gegenwart von 5‰ Salzsäure, 5‰ Karbol, 1‰ Sublimat oder 1‰ Salizylsäure, nicht die auf Gelatine⁵⁾. Beim Trypsin kann man ähnliches

1) Arch. f. Hyg. 5, 1886.

2) Baumgartens Jahresber. 1887. 104 und 362 ff.

3) Arch. f. Hyg. 10, 12 und 14.

4) Arch. f. Hyg. 36. 346.

5) Daraus erklärt sich, daß viele Bakterien die von *Gorini* sogenannten Milchsäure-Labbakterien (§ 97) bei saurer Reaktion Gelatine verflüssigen.

beobachten, beim Pepsin bleibt Salz- und Salizylsäure ohne Einfluß. Umgekehrt ist die Gegenwart starker S o d a l ö s u n g für die Proteolyse durch Trypsin und Bakterien ohne Belang. Durch die R e a k - t i o n , bei der sie lösen, erscheinen also die E n - z y m e d e r B a k t e r i e n d e m T r y p s i n ä h n l i c h . In anderer Beziehung sind sie ihm aber wieder unähnlich; so vertragen die Bakterienfermente eine 12tägige Behandlung mit 1prozentiger Salzsäure, während das Trypsin und Papayotin dadurch wirkungslos werden. Auch gegen Erhitzung ist das Trypsin weniger widerstandsfähig, es wird schon durch Temperaturen von 50° in kurzer Zeit und selbst von 37° binnen 24 Stunden geschädigt, während die Bakterienenzyme ihre proteolytische Kraft erst bei 50—70° verlieren¹⁾. Im trockenen Zustand auf 140° erhitzt, scheint umgekehrt das Trypsin länger zu widerstehen als das Enzym des Spirill. Finkler-Prior (F e r m i und P e r n o s s i ²⁾). Das Sonnenlicht zerstört sowohl das eine wie das andere Ferment auf die Dauer.

Zwischen den Enzymen der einzelnen Bakterien zeigen sich übrigens auch beträchtliche Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber schädigenden Einflüssen, wie hohen Temperaturen, Säuren, Giften³⁾. So wird z. B. durch Schwefelwasserstoffdurchleitung von einer Stunde Dauer das Ferment des Bac. pyocyaneus, des Tetanus- und Milzbrandbazillus, des Spir. Metschnikoff und Miller fast gar nicht geschwächt, das des Bac. prodigiosus, proteus vulgaris und indicus völlig vernichtet. Trypsin ist demselben Mittel gegenüber ziemlich widerstandsfähig.

Wichtiger zur Kennzeichnung der Enzyme als ihre Widerstandsfähigkeit scheint die Wirkungsweise auf die Eiweißkörper. In dieser Beziehung sollen die Bakterienenzyme nach F e r m i ⁴⁾ e h e r d e m P e p s i n als dem Trypsin g l e i c h e n , ja sie sollen die Eiweißkörper sogar noch nicht einmal, wie es das Pepsin nach längerer Einwirkung tut, zu Pepton spalten, sondern sie nur eben in den löslichen Zustand überführen. Das Fibrin wird dabei so verwandelt, daß es zwar durch Kochen unfällbar, aber durch Salpetersäure in der Kälte teilweise, und in der Wärme vollständig gefällt wird. F r i s c h e s Eieralbumin wird zwar von den Spir. cholerae und Finkler-Prior sowie besonders vom Bac. prodigiosus und pyocyaneus, nicht vom Bac. anthracis verflüssigt, verliert aber selbst nach zweimonatlicher Einwirkung nicht die Eigenschaft, durch Kochen zu gerinnen. Ähnlich verhält sich k o a g u l i e r t e s Blutserum. Lebende Kulturen des Milzbrand-

1) Vgl. F e r m i , Arch. f. Hyg. 12.

2) Zeitschr. f. Hyg. 18. 1894.

3) Vgl. F e r m i , Arch. f. Hyg. 12.

4) Ebenda 12. 27 ff.

bazillus, *Spir. cholerae* und Finkler-Prior, *Bac. prodigiosus* und *pyocyaneus* und *Trichophyton tonsurans* verflüssigten das Serum, die Lösung wurde aber durch Kochen und Salpetersäure in der Kälte fast vollständig flockig gefällt. Die bakterienfreien Enzyme der beiden Spirillen lösten das Blutserum gleichfalls, die der übrigen Mikroorganismen nicht. Die Gerinnbarkeit durch Hitze blieb auch hier selbst nach zweimonatlicher Einwirkung erhalten. Allerdings will *F e r m i* dasselbe für Trypsin beobachtet haben. In späteren Versuchen¹⁾ konnte derselbe Autor in Eiweißgemischen, die mit zahlreichen Reinkulturen oder Fäulnisbakterien geimpft waren, nach mehrwöchentlicher Einwirkung mittelst die Biuretprobe *n i e m a l s P e p t o n* als Bakterienprodukt nachweisen.

Man muß nach diesen Erfahrungen *F e r m i*s wohl zugeben, daß in vielen Fällen die Enzyme der Mikroorganismen die Proteolyse noch nicht einmal bis zur Stufe des Peptons durchführen. Daß das aber ein allgemeines Gesetz sein sollte, ist selbst, wenn wir von einzelnen Beispielen, auf die wir gleich kommen werden, absehen, ganz und gar unwahrscheinlich. Wir werden bei Besprechung der Fäulnis (§ 167 ff.) feststellen, daß viele Bakterien das Eiweiß noch weiter spalten als das Trypsin und sich wahrscheinlich zum größten Teil dazu echter Enzyme bedienen. Leider ist deren Nachweis freilich noch nicht in größerem Umfange geliefert worden, aber wohl nur deshalb, weil man bei den zahlreichen in Betracht kommenden Untersuchungen nur ausnahmsweise das Augenmerk auf die Enzyme gerichtet hat. Diejenigen Forscher, die sich nach *F e r m i* mit den proteolytischen Enzymen der Mikroorganismen beschäftigt haben, sahen mehr darauf, ob eine Lösung stattfand oder nicht, ließen aber meist die Produkte der Lösung unbeachtet. So hat *E i j k m a n n* ²⁾ durch seine Plattenmethode uns ein einfaches Mittel an die Hand gegeben, uns von dem Vorhandensein eiweißlösender Enzyme zu überzeugen. Sämtliche gelatineverflüssigende Mikroorganismen hellen z. B. auf Platten, die mit Kasein- oder Milchagar hergestellt sind, den Nährboden im Umkreise der Kolonien auf einige wenige von ihnen³⁾, wie der *Bac. pyocyaneus*, *fluorescens liquefaciens*, in geringerem Maße auch der *Bac. anthracis* und *anthracoides*, erzeugen solche „Höfe“ auf Agarplatten, die mit fein zerhackten elastischen Geweben gemischt sind. Das kann nur durch die Wirkung von Enzymen erklärt werden. In der Tat hat *E i j k m a n n* die Lösung des *E l a s t i n s* auch in keimfreien Filtraten von Bouillonkulturen des *Pyocyaneus* festgestellt.

1) Zentr. Bakt. 20. 387.

2) Ebenda 29. 22, 1901.

3) Ebenda 35. 1, 1903.

Eine genauere Untersuchung der enzymatischen Spaltungsprodukte des Eiweißes, die zu anderen Ergebnissen als die F e r m i s c h e Arbeit führte, hat u. a. E m m e r l i n g ¹⁾ vorgenommen. Er vermischte 30 g B a k t e r i e n s u b s t a n z des Bac. fluorescens liquefaciens mit 1000 g Fibrin und ließ die wässrige Aufschwemmung mit Toluolzusatz wochenlang bei 37° stehen. Allmählich ging sämtliches Fibrin in Lösung. P e p t o n war lange nachweisbar. Dazu traten dann Tyrosin, Arginin, Leuzin, Asparaginsäure, alles Produkte, die bei der Trypsin- und durch E m m e r l i n g selbst bei der Papayotinverdauung nachgewiesen worden sind. Dieser Versuch ist insofern nicht einwandfrei, als nicht die nach außen abgesonderten Enzyme der Bakterien, sondern deren Endoenzyme (s. u. § 166) geprüft wurden. Wir glauben sie aber schon hier wiedergeben zu sollen, weil der Fluorescens zu den Bakterien gehört, die Eiweiß besonders energisch lösen.

Einwandfrei ist dagegen die Untersuchung K a l i s c h e r s ²⁾ über die Verdauung des Kaseins durch Milchkakterien aus der Gruppe der Heubazillen. Er benutzte zu seinen Versuchen durch Chamberlandfilter filtrierte alte Bouillonkulturen oder durch gewöhnliches Filtrierpapier hindurchgegangene Bouillon mit Zusatz von Thymol oder Toluol. Natürliche Milch oder künstliche Kaseinlösung wurden zunächst durch diese Filtrate zur Gerinnung gebracht (s. u. Labferment § 177), dann aber allmählich gelöst. In einem Versuch hörte die Enzymwirkung mit der P e p t o n i s i e r u n g auf, in einem anderen, in dem größere Mengen von kräftiger wirkender Enzymlösung zur Verwendung gelangten, wurde nicht nur alles Kasein binnen zwei Tagen in P e p t o n übergeführt, sondern das Pepton noch weiter gespalten. Leuzin und Tyrosin wurden isoliert, die T r y p t o p h a n - r e a k t i o n fiel positiv aus, und in dem Ätherextrakt wurde durch die M i l l o n s c h e Reaktion die Anwesenheit einer aromatischen Oxy-säure festgestellt. Durch diese letztere Reaktion geht die Fermentwirkung also sogar über die des T r y p s i n s hinaus (vgl. § 166). Spuren von Ammoniak wurden, wie so häufig bei der Trypsinverdauung, ebenfalls entwickelt. Das proteolytische Enzym ließ sich durch Alkohol aus der Fermentbouillon ausfällen, meist in Gesellschaft des Lab-enzym; aus 6 Wochen alter Bouillon wurde nur das erstere gewonnen.

Bei einigen Anaërobiern hat A c h a l m e ³⁾ folgendes festgestellt. Zunächst gelang es ihm nicht, wie anderen Forschern ⁴⁾, mittelst Filtra-

1) Ber. chem. Ges. 1902. 700.

2) Arch. f. Hyg. 37. 48, 1900.

3) Annal. Pasteur 1902, 649.

4) Passini (Zeitschr. f. Hyg. 49. 153) erhielt z. B. in Pukallfiltraten des Bac. putrificus ein peptonisierendes Ferment.

tion durch Tonfilter das Enzym nachzuweisen, sondern nur dadurch, daß er die Kulturen zentrifugierte und die klare Flüssigkeit mit Zusatz von Chloroform oder besser von Senföl bei 48° verwandte. Durch diese Lösung wurde nicht nur Gelatine, sondern auch Kasein, Fibrin, Syntonin und Eiereiweiß peptonisiert, die weitere Spaltung bis zum Leuzin und Tyrosin ging aber nur sehr langsam von statten, während die lebenden Bakterien so schnell über die Stufe des Peptons hinausgelangen, daß es in lebenden Kulturen nur schwer nachgewiesen werden kann. Mit dem Trypsin des Pankreas stimmt das Enzym dadurch überein, daß es nur bei deutlich alkalischer Reaktion kräftig wirkt und durch Zusatz von Blutserum in seiner Wirkung gehemmt wird. Die Ähnlichkeit geht sogar so weit, daß das „Antitrypsin“, das Achalmé¹⁾ durch Einspritzung von Pankreatin im Tiere erzeugen konnte, auch das Bakterientrypsin fast ebenso stark beeinflusste. Die Ausscheidung des Enzyms durch die Bakterien ist in den ersten Tagen sehr gering, sie wird erst energischer, wenn die Sporulation und damit die Auflösung des Bakterienkörpers beginnt. Es läßt sich nicht leugnen, daß das Verdauungsenzym der Anaërobier durch diese Eigenschaft sich wieder den intrazellulären Enzymen (§ 166) nähert.

Von anderen Arbeiten über Bakterien seien noch erwähnt die von Caccace²⁾ und Mavrojannis³⁾, obwohl beide Verfasser nicht mit Enzymen, sondern mit lebenden Kulturen gearbeitet haben. Caccace wies durch Züchtung der *Sarcina aurantiaca* des Bac. anthracis und *Staphyloc. pyogenes aureus* in Gelatine und koaguliertem Rinderblutserum nach, daß diese Bakterien das Eiweiß in ähnlicher Weise spalten wie Verdauungsfermente, unter Bildung von Proto- und Deuteroalbumosen und Spuren von Pepton. Um diese Produkte nachzuweisen, muß man aber nicht so spät, wie es Fermi getan, sondern in einem früheren Zeitpunkt untersuchen, weil sonst die Spaltung zu einfacheren Körpern fortschreitet. Letztere wurden leider nicht geprüft. Mavrojannis benutzte die Erfahrung, daß Formaldehyd die Lösungen der ersten Produkte der Eiweiß- und Leimverdauung, der Albumosen (Gelatosen) zur Erstarrung bringt, die Peptone schon nicht mehr, um das proteolytische Vermögen der Mikroorganismen zu studieren. Er fand dabei, daß der *Staphyloc. pyog. aureus* und *albus*, Bac. anthracis, *pyocyaneus* und das *Spir. cholerae* zur ersten, *Spir. Deneke*, Finkler-Prior und *Metschnikoff* zur zweiten Gruppe gehören. Aus einer alten Denekekultur gelang

1) Annal. Pasteur 1901, 737.

2) Zentr. Bakt. 30. 244, 1901.

3) Zeitschr. f. Hyg. 45, 1903.

es dem Verfasser auch in gewisser Menge Gelatinepepton auszuziehen. Es liegt auf der Hand, daß diese Formalinhärtungsmethode nur gröbere Unterschiede in dem Peptonisierungsvermögen der Bakterien enthüllen kann.

Über die proteolytischen Enzyme der Fadenpilze liegen auch einige Untersuchungen vor. Fermi (s. o.) hatte ihre Existenz schon für *Trichophyton tonsurans* bewiesen, Duclaux¹⁾ und Hansen²⁾ für *Penicillium glaucum* und andere Schimmelpilze. Bokorny³⁾ fand bei Verdauungsversuchen mit Blutalbumin, Hühnereiweiß, Milchkasein, Legumin und Fleisch, daß durch Schimmelpilze bei saurer Reaktion nur 1—6%, und zwar am meisten vom Fleisch gelöst wurden. Er betont die Ähnlichkeit mit der Pepsinwirkung. Genauer wurden die proteolytischen Enzyme von Malfitano⁴⁾, Butkewitsch⁵⁾ und Went⁶⁾ studiert. Die Angaben lauten verschieden. Nach Malfitano geht das proteolytische Enzym des *Aspergillus niger* nur aus absterbenden oder toten Myzelien in die Nährböden über (s. u. § 166), daher entwickelt es sich bei Kultur des Pilzes in Raulinscher Lösung bei 25°, wo das Absterben früher erfolgt, viel schneller. Die Art der Stickstoffernährung soll dabei keinen Einfluß auf den Enzymgehalt der Flüssigkeit haben. Am reichlichsten ist die „Protease“ durch Zerreiben des Pilzkörpers selbst zu erhalten. Sie wirkt am besten bei schwach saurer Reaktion, wie sie durch saure Phosphate erhalten wird, aber auch noch bei neutraler Reaktion, während alkalische ihre Wirksamkeit aufhebt. Die Proteolyse steht nicht still bei dem Pepton, sondern geht noch weiter. Die Zersetzungsprodukte stellte Malfitano aber nicht näher fest. Gelatine und Kasein wird stärker angegriffen als Albumin, durch Hitze koaguliertes Albumin widersteht überhaupt. Butkewitschs Versuchsanordnung unterschied sich insofern, als er nicht von der Raulinschen Nährflüssigkeit, sondern von einer Peptonzuckerlösung, die mit Phosphorsäure nur wenig angesäuert war, ausging. Es zeigte sich, daß sowohl die sterile Kulturflüssigkeit von *Aspergillus*, die sauer reagierte, als die von *Penicillium glaucum* und *Mucor*, die alkalisch reagierte, Gelatine verflüssigten. Wurde Pepton durch ein Ammoniaksalz ersetzt, so enthielt die Kultur kein Enzym. Innerhalb des Pilzkörpers ließ sich dagegen stets ein solches nachweisen, allerdings in größerer Menge

1) Le lait, 1894.

2) Flora 89. 88.

3) Chemikerzeitung 26, Kochs Jahresber. 1902. 579.

4) Annal. Pasteur 1900. 60 und 420.

5) Jahrb. wiss. Botanik 38, 1903.

6) Ebd. 36, 1901.

bei Ernährung mit Pepton. Von den Enzymen wurde auch Fibrin und Pepton gespalten, und zwar entstanden dabei Leuzin und Tyrosin neben Ammoniak.

Wents Arbeit endlich ist deshalb bemerkenswert, weil sie die Ausscheidung von proteolytischen Enzymen unter verschiedenen Ernährungsbedingungen festzustellen suchte: unähnlich den Kohlehydrate spaltenden Enzymen (vgl. Kap. VI) bildet die *Monilia sitophila* proteolytische nur auf Nährböden, die Protein, nicht auf solchen, die Kohlehydrate, Glyzerin, Fette usw. enthalten. W e n t hält es für eine Art Trypsin, weil sich unter den Spaltungsprodukten Ammoniak nachweisen ließ.

Eine „Kasease“ (D u c l a u x) fanden ferner B o d i n und L e n o r m a n d ¹⁾ in den Kulturfiltraten eines auf der Haut schmarotzenden Strahlenpilzes (*Oospora* oder *Mikrosporon*). Sie löste nicht bloß Kasein, sondern ebenfalls Gelatine, Serum und Eiereiweiß. Eine 15 Minuten dauernde Erhitzung auf 70° schädigte sie nur wenig, 80° zerstörte sie vollständig. Das Enzym entwickelt sich sehr allmählich und ist am kräftigsten in alten Kulturen, in denen der Pilzrasen schon stark im Schwinden begriffen ist (vgl. § 166).

Die Bildung der proteolytischen Enzyme durch die Mikroorganismen wird durch verschiedene Umstände beeinflusst. Viele von ihnen büßen nach L i b o r i u s ²⁾ das Verflüssigungsvermögen ein, wenn ihnen die Sauerstoffzufuhr beschränkt wird; eine allgemeine Regel ist das aber nicht, denn unter den strengen Anaërobiern gibt es bekanntlich eine Anzahl, die mit besonders kräftigen eiweißlösenden Enzymen begabt sind. Daß zu der Proteolyse selbst der Sauerstoff der Luft nötig wäre, ist also nicht anzunehmen, die einmal gebildeten Enzyme werden wohl auch bei den luftliebenden Kleinwesen bei Sauerstoffabschluß ihre Tätigkeit ausüben, und nur ihre Erzeugung sinkt. Ebenso verschieden wie der Einfluß der Luft ist der der Zusammensetzung des Nährbodens. Wir haben schon gesehen, daß von vielen, aber nicht allen Bakterien proteolytische Enzyme auch auf Kartoffeln gebildet werden, also auf Stoffen, die kaum eine Verwendung der Enzyme gestatten und dabei besonders reich an Kohlehydraten sind, während umgekehrt die *Monilia sitophila* W e n t s ihr Enzym nur auf Proteinnährböden ausscheidet.

Etwas zweifelhaft ist die Deutung folgender Erfahrungen. Die Gegenwart von Zucker hemmt nach L i b o r i u s u. a. die Verflüssigung der Gelatine durch den *Bac. anthracis* und die Spirillen völlig, die durch

1) Annal. Pasteur 1901.

2) Zeitschr. f. Hyg. 1, 1886.

den *Staphyloc. pyogenes aureus*, den *Bac. prodigiosus* und *proteus vulgaris* nur teilweise. Andere, wie der *Bac. subtilis*, *aërophilus*, *fluorescens liquefaciens* und *pyocyaneus* werden gar nicht beeinflußt. Im ersteren Falle kann man entweder daran denken, daß die Bildung des Enzyms unterbleibt, weil die Bakterien bei Gegenwart des Zuckers es vorziehen, aus ihm ihren Nahrungsbedarf zu befriedigen, also die proteolytischen Enzyme nicht produzieren, weil sie ihrer nicht mehr bedürfen (s. o. und § 58), oder aber die saure Reaktion der Spaltungsprodukte des Zuckers für die fehlende Proteolyse verantwortlich machen.

Die Wirkung von Alkaloiden auf die Fermentabsonderung hat *Fermi*¹⁾ studiert. Ein Zusatz von Antipyrin und Strychnin soll sie beim *Bac. prodigiosus*, ein solcher von Chinin beim *Bac. pyocyaneus* aufheben, ohne das Wachstum der Bakterien deutlich zu beeinflussen. Die Ursachen sind nicht klar. Wenn das Wachstum beeinträchtigt würde, wäre das Ausbleiben der Enzymbildung natürlich nicht weiter verwunderlich.

Aus unserer Darstellung ergibt sich, daß unsere Kenntnisse über die proteolytischen Enzyme der Mikroorganismen noch ziemlich lückenhaft sind. Soviel ist jedenfalls klar, daß zwischen den einzelnen Arten große Unterschiede bestehen, die wohl nicht bloß darauf beruhen, daß die Menge des gebildeten Enzyms wechselt, sondern ihre Wirkungsweise eine ungleiche und mehr oder weniger tiefgreifende ist. In dieser Beziehung haben sie bald mehr Ähnlichkeit mit dem Pepsin, bald mit dem Trypsin, ohne aber sonst mit diesen völlig übereinzustimmen. Dem Trypsin stehen sie wohl im allgemeinen insofern näher, als alkalische Reaktion ihre Wirksamkeit meist begünstigt, doch kommen besonders bei Pilzen, aber auch bei Bakterien Ausnahmen vor, die wahrscheinlich in manchen Fällen, z. B. bei der Reifung des Käses (§ 178), praktisch bedeutsam sind, und sich vielleicht durch die vorwiegende Beteiligung von Endoenzymen (§ 166) an der Proteolyse erklären.

Daß auch den Mikroorganismen Fermente zukommen, die bloß imstande sind, Albumosen, Pepton und von den eigentlichen Eiweißkörpern nur Kasein zu spalten, wie das *Erepsin* der Darmschleimhaut (*Cohnheim*), wird von *Vines* behauptet. Wir kommen darauf ebenfalls bei den Endofermenten (§ 166) zurück. Neuerdings haben *de Waale* und *Vandeveld*²⁾ angegeben, auch nicht verflüssigende Bakterien wie Typhus-, Paratyphus- und Colibazillen verflüssigten bzw. spalteten die Gelatine und Kasein zu Pepton. Sie bestimmten das unveränderte Kasein (in Milch oder Kaseinbouillon)

1) Arch. f. Hyg. 14.

2) Zentr. Bakt. 39. 353, 1905.

durch Niederschlagen mit Essigsäure und die Gelatine durch Fällen mit 70prozentigem Alkohol, der Albumosen und Pepton nicht fällt. Ob es sich hier um eine besondere Enzymart oder um Endotryptas handelt, steht dahin. Die Fähigkeit, P e p t o n zu spalten, besitzen alle diese Bakterien (§ 174).

Nach einigen Beobachtungen von D e l e z e n n e und B r e t o n¹ sollen dieselben und andere Mikroorganismen, die nicht verflüssigenden Bac. aërogenes, coli, typhi und die verflüssigenden Bac. mesentericus und Spirillum Finkler-Prior in ihren Kulturfiltraten eine Substanz enthalten, die der E n t e r o k i n a s e des Darmsafts (P a w l o w entspricht, d. h. die Fähigkeit besitzt, die verdauende Tätigkeit des Pankreassaftes in Gang zu bringen oder, wie man sagt, das Trypsin zu „aktivieren“. Nach B r e t o n würden die Darmbakterien durch diese Eigenschaft befähigt sein, die Verdauung zu unterstützen (vgl. Infektionslehre).

Auf „Nukleasen“, wie man sie auch im Pankreas findet, zurückgeführt werden die verflüssigenden Wirkungen, die gewisse Bakterien auf nukleinsaures Natron ausüben²). Die Verschiedenheit der Nukleasen von den tryptischen Fermenten wurde dadurch erwiesen, daß Gelatineauflösung dabei fehlen kann. Die Spaltung der Nukleinsäure bleibt übrigens bei der Verflüssigung nicht immer stehen, sondern es werden wahrscheinlich auch wieder durch dieselben oder andere Fermente Nuklein-(Purin-)basen abgespalten, und diese wieder teilweise (Guanin, Adenin?) zersetzt (s. u.).

Zu den hydrolytischen sind ebenfalls zu rechnen die Spaltungen des A s p a r a g i n s (Glutamins) und A r g i n i n s, und beide auch enzymatischer Natur. Die Zersetzung des Asparagins in Asparaginsäure und Ammoniak werden wir später bei der Vergärung des Eiweißes durch den Proteusbazillus (§ 169) und Pyozyaneus (§ 171) zu erwähnen haben. Das Vorkommen von A r g i n a s e, d. h. eines das Arginin (Guanidin- α -aminovaleriansäure) unter Wasseraufnahme in Harnstoff und Ornithin spaltenden Ferments, neben „Guanasen“ im Hefepreßsaft machte S h i g a³) wahrscheinlich. Damit kommen wir zu den intrazellulären Verdauungsenzymen (§ 166). Man kann übrigens von vornherein annehmen, daß mit den bisher bekannten Arten der proteolytischen Fermente die Zahl der vorhandenen noch nicht erschöpft ist.

1) Compt. rend. soc. biol. 1904. 35.

2) P l e n g e, Zeitschr. physiol. Chem. 39, 1903; I w a n o f f ebenda, N a k a y a m a ebenda 41, 1904; S c h i t t e n h e l m und S c h r ö t e r ebenda 39—41.

3) Zeitschr. physiol. Chem. 42, 502, 1904.

Das Verhältniß des Labferments zu den proteolytischen wird uns später beschäftigen (§ 177).

§ 166. Selbstverdauung der Kleinwesen. Endotryptase. Von der Bierhefe ist seit ihrer Reinzüchtung bekannt, daß sie, wenn überhaupt, nur ein sehr geringes Verflüssigungsvermögen für Gelatine und andere Eiweißkörper¹⁾ besitzt. Ebenso und noch länger bekannt ist aber ein Zersetzungs Vorgang, der die Eiweißstoffe der Hefe²⁾ selbst ergreift, wenn sie in größeren Mengen aufbewahrt wird, ohne daß ihr Gelegenheit zur Gärung und zum Wachstum gegeben ist, die von S a l k o w s k i ³⁾ zuerst sogenannte „Autodigestion“, Selbstverdauung, Autolyse der Hefe⁴⁾. Seitdem unterscheidet man sie auch dem Namen nach von der sogenannten Selbstvergärung der Hefe (S. 267). Nach der Herstellung des Hefepreßsaftes durch E. B u c h n e r wies dann H a h n ⁵⁾ das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms („Endotryptase“) neben der Zymase in diesem Preßsaft nach und studierte dessen Wirkungen zugleich mit G e r e t ⁶⁾. Zunächst machen sich diese schon dadurch bemerkbar, daß der Preßsaft allein, wenn er mit Chloroform oder Toluol, z. B. im Eisschrank 3 Wochen lang, im Zimmer 10—14 Tage, bei 37° wenige Tage steht, nicht mehr durch Hitze gerinnt.

Aber auch zugesetzte Eiweißkörper, wie Gelatine, Kasein, Glutinkasein, Legumin, Eialbumin, Fibrin, Nuklein werden von dem Preßsaft verdaut. Die Verdauungsprodukte verteilen sich zum Schluß ungefähr zu 30% auf die durch Phosphorwolframsäure zu fällenden Basen (die sogenannten Hexonbasen — Diaminosäuren — Histidin, Arginin, Lysin und Ammoniak), zu 70% auf Aminosäuren (Leuzin, Asparaginsäure, Tyrosin, Tryptophan). Daneben entstehen in geringerer Menge Nukleinbasen wie Guanin, Adenin, Xanthin, Hypoxanthin. Ferner wird der organisch gebundene Phosphor schnell in Form von Phosphorsäure abgespalten, während bezüglich des Schwefels nur erwähnt wird, daß der gebundene Schwefel zum

1) Vgl. darüber namentlich B o u l l a n g e r, Annal. Pasteur 1897; B e i j e r i n c k, Zentr. Bakt. 2. Abt. 3. 449; W i l l e b e n d a 4. 753, 1898.

2) T h é n a r d, Ann. chim. phys. 46. 294; P a s t e u r ebenda 3. sér. 58. 401, 1860; L i e b i g, Annal. d. Chemie 153, 1870; B é c h a m p, Compt. rend. ac. sc. 61. 74. 78 u. 88, 1865—79; S c h ü t z e n b e r g e r, Gärungserscheinungen, 1875.

3) Zeitschr. physiol. Chem. 13, 1889.

4) Später namentlich studiert von K u t s c h e r ebenda 32. 1901.

5) Ber. chem. Ges. 1898. 200.

6) Ebenda 202 und 2335, vgl. auch die Darstellung bei E. B u c h n e r und H a h n, Zymasegärung 1903.

geringen Teil in Schwefelsäure übergeht. Albumosen treten während der Spaltung nur vorübergehend und in geringer Menge auf, Pepton überhaupt nicht. Die Wirksamkeit des Ferments ist am größten bei 40—45°, sie wird vernichtet bei 60°. Bei 37° hält sich die Wirkung 9—15 Tage. Sauerstoff hat vielleicht einen geringen fördernden Einfluß. Von den Antisepticis sind schädlich nur Sublimat und Phenol durch die Fällung, die sie hervorrufen, und in größerer Menge angewandt Formaldehyd, Blausäure und Chinin¹⁾. Neutralsalze wirken selbst in konzentrierter Lösung günstig, Alkalien schon bei Neutralisierung des schwach sauren Preßsaftes ungünstig, während Säuren bis zu einem gewissen Grade (2‰ Salzsäure) die Proteolyse beschleunigen. Glyzerin, Mannit und alle Zuckerarten hemmen, ebenso wie Konzentrierung des Preßsaftes, die verdauende Wirkung, größere Mengen von Alkohol (über 5%) ebenso, nicht dagegen Glykokoll¹⁾. Das Enzym, das von Hahn „Endotryptase“ genannt wird, wahrscheinlich aber mit einer „Endonuklease“ und anderen Fermenten (s. u.) gemischt ist, läßt sich durch wiederholte Alkoholfällung reinigen, meist aber nicht vollständig von der Invertase der Hefe trennen, gibt noch die meisten Eiweißreaktionen und ist nicht dialysierfähig. Selbst aus jungen Hefekulturen läßt sich das Enzym durch Verreiben mit Kieselguhr und Sand sofort gewinnen, es scheint aber in der lebenden Zelle in Form eines Zymogens vorhanden zu sein, aus dem es in größerer Menge erst durch schädigende Einflüsse der verschiedensten Art frei wird und dann auch unter Umständen nach außen tritt. So erklärt sich gleichzeitig mit der Selbstverdauung der lebenden Hefe wohl auch die proteolytische Wirkung älterer, im Absterben begriffener Hefekulturen. Möglich wäre es freilich, daß wie Vines²⁾ es behauptet, die Endotryptase noch von anderen proteolytischen Enzymen, die sich leichter von der Zelle trennen lassen, begleitet wäre. So erhielt er durch rasches Ausziehen von Hefe ein pepton- und kaseinlösendes „Erepsin“.

Es braucht kaum gesagt zu werden, daß sich die Endotryptase nicht nur im Preßsaft, sondern auch in der Dauerhefe nachweisen läßt.

Zur Ergänzung dieser Mitteilungen über die Wirkung der Endotryptase mag noch die Erfahrung von Schütz³⁾ dienen, daß bei

1) G r o m o w , Zeitschr. physiol. Chem. 42. 300, 1904, vgl. über die zum Teil entgegengesetzten Wirkungen von Giften und anderen Zusätzen auf die Zymase und die Endotryptase auch S. 269 u. 270.

2) Annal. of botany 1904 u. 1905 (Kochs Jahresber.).

3) H o f m e i s t e r s Beitr. 3, 1903.

der Selbstverdauung der Hefe etwa 6% des Gesamtstickstoffs in Form von Ammoniak erscheint¹⁾. Nach S c h ü t z zeigt sich ferner, daß Euglobulin und Serumalbumin, die der in Selbstverdauung begriffenen Hefe zugesetzt werden, weniger angegriffen werden als das eigene Eiweiß der Hefezelle, am wenigsten aber Pseudoglobulin. Letzteres schien sogar die Selbstverdauung zu hemmen. Dagegen wurde Gelatine sehr reichlich zersetzt. Die Mitteilungen von H a h n und G e r e t sowie die früheren Erfahrungen über die tryptischen Fermente lassen noch die Gegenwart einer die Nukleinsäure zersetzenden „Nuklease“ (s. o. S. 494) vermuten. Die dabei entstehenden oder künstlich zugesetzten Nukleinbasen werden chemisch noch weiter verändert. So kann man nach den Versuchen S h i g a s²⁾ im Hefepreßsaft mindestens noch eine „Guanase“ annehmen. Außerdem wird nach demselben Forscher Arginin durch eine „Arginase“ des Preßsaftes in Ornithin und Harnstoff gespalten. Nach I w a n o f f ist im Hefepreßsaft auch noch ein synthetisches Enzym enthalten, das die Phosphorsäure in organische Bindung überführt (Triosephosphorsäure vgl. S. 263). Wie diese sich zu dem Phosphorsäure abspaltenden von H a h n und G e r e t verhält, wäre noch auszumachen.

Intrazelluläre Enzyme ähnlicher Art haben H a h n und G e r e t auch aus Typhus-, Tuberkelbazillen und Sarcina rosea³⁾ mittelst der Preßsaftmethode dargestellt. Es sind das Mikroorganismen, bei denen man bis dahin überhaupt keine proteolytischen Eigenschaften gekannt hatte. Die von H a h n und G e r e t befolgte Technik ist zwar sonst nur noch selten angewandt worden, trotzdem

1) Bei der Selbstverdauung der Organe und Bakterien (s. u.) wurden öfters ähnliche, bei der Trypsinverdauung meist niedrigere Zahlen erhalten. Daraus wie aus den übrigen Zersetzungsprodukten der Endotryptase mit H a h n (in L a f a r s Handb. 3. 127) zu schließen, daß die letztere sich zu den proteolytischen Ektoenzymen verhalte wie Zymase zu Invertase, geht nicht an. Wenn die Endotryptase die Aminosäuren spaltete, wie etwa die Fäulnis, wäre es eben kein tryptisches (hydrolytisches) Ferment mehr, sondern eine „Aminazidase“. In der Tat spricht viel dafür, daß solche bei der Selbstverdauung der Organe, der Hefe und namentlich der Bakterien neben tryptischen Enzymen mitwirken (s. u. im Text).

2) Zeitschr. physiol. Chem. 42, 1904. Vgl. § 193.

3) K u t s c h e r (Sitzungsber. Gesellsch. z. Beförd. Naturw. Marburg Mai 1901) findet bei elftägiger Selbstverdauung frischer Tuberkelbazillen unter Chloroformzusatz, daß beträchtliche Mengen der Bazillen in Lösung gehen, die gelösten Stoffe aber wegen ihres geringen Stickstoffgehalts nur etwa zum dritten Teil aus Eiweiß bestehen könnten. Propepton und Pepton fehlten gänzlich (keine Biuretreaktion), eine leuzinähnlich kristallisierende Substanz und geringe Mengen von Alloxur- (Nuklein-)Basen waren nachweisbar.

sprechen viele Tatsachen dafür, daß intrazelluläre Verdauungsenzyme in den Mikroorganismen weit verbreitet, ja allgemein vorkommen. Die Ergebnisse, die E m m e r l i n g mit den Leibern des *Bac. fluorescens liquefaciens* erhalten hat, wurden schon früher besprochen (S. 489). Besonders häufig, allerdings nicht immer mit genügender Sicherstellung der intrazellulären und enzymatischen Natur seines Leistungsvermögens wurde der mit dem *Fluorescens* nahe verwandte *Pyocyaneus* studiert. Sehr bedeutend ist die lösende Kraft, welche die „Pyocyanase“¹⁾ nach E m m e r i c h und L ö w auf die Bakterienleiber der eigenen und auch fremder Arten ausübt. Sie arbeiteten meist mit eingedickten Filtraten alter Kulturen. Aber der Preßsaft des *Bac. pyocyaneus* wirkt nach P. K r a u s e ²⁾ ebenfalls sehr kräftig. Nach B r e y m a n n ³⁾ haben schon die zerriebenen — nur mit Chloroform abgetöteten und getrockneten — Bazillen verdauende Wirkung auf Gelatine. S e r a hat jüngst in meinem Laboratorium den Versuch gemacht, den Grad der Selbstzersetzung von *Pyocyaneus*bazillen unter Chloroform an der Hand von Ammoniakbestimmungen festzustellen. Er fand etwa 13% des Stickstoffs der Bazillenleiber als Ammoniak wieder. Wir schließen daraus auf das Vorhandensein von „Aminazidasen“ neben Endotryptase (s. u.). A u f l ö s u n g s e r s c h e i n u n g e n sind übrigens schon früher vielfach in Bakterienkulturen beobachtet worden, so besonders bei *Pneumoniokokken*, *Gono-* und *Meningokokken*, *Cholera-* und *Milzbrandbazillen* ⁴⁾. Allem Anschein nach gehört auch ein Teil der „Entartungsformen“, die man ganz allgemein in alten Bakterienkulturen gefunden hat in den Bereich der Selbstverdauung. Wir haben die mikroskopischen Veränderungen, die dabei auftreten, schon früher ausführlich besprochen und verweisen auf die dort gegebene Literatur (§ 9). Die chemischen Vorgänge sind aber bisher nur ausnahmsweise näher verfolgt worden. Von vornherein wird man erwarten dürfen, daß morphologische und chemische Veränderungen einigermaßen parallel gehen. Wenn daher M o u t o n ⁵⁾ erklärt, die *Colibazillen* unterscheiden sich durch den Mangel der autolytischen Fähigkeit von anderen Bakterien, so ist uns das nach unseren eigenen Erfahrungen verständlich (S. 22). Doch kommen Stämme mit anderen

1) Wahrscheinlich enthält die Pyocyanase neben Verdauungsenzymen noch einen eigentümlichen hitzebeständigen bakteriziden Stoff (Lipoid?), über den an anderer Stelle berichtet wurde (§ 7 u. 8). Dort Lit.

2) Zentr. Bakt. 31. 14, 1902.

3) Ebenda 31. 498, 1902.

4) P f e r s d o r f f (Zeitschr. Tiermediz. 8, 1904) fand darin ein gelatinelösendes Ferment (vgl. u.).

5) Annal. Past. 1902. 498.

Eigenschaften vor. R e t t g e r ¹⁾ hat z. B. die Autolyse ebensowohl bei Colibazillen wie beim Pyocyaneus und Prodigiosus gefunden; nach ihm ist sie am besten zu beobachten und mit Hilfe der B i u r e t r e a k - t i o n zu verfolgen in dicken Aufschwemmungen der Bazillen in neutraler oder leicht alkalischer physiologischer Kochsalzlösung mit 5% Toluolzusatz. 10% des Antiseptikums hoben die Autolyse völlig auf, ebenso 70 Minuten dauernde Erhitzung auf 58—60°.

Am weitesten gehen die autolytischen Wirkungen anscheinend beim Proteus vulgaris²⁾. N a w i a s k y ³⁾ hat nämlich gefunden, daß 6,5—7 g Proteusbazillen in 100 ccm einer Mineralsalzlösung in 4—15 Tagen 21—99 mg A m m o n i a k abspalteten. Berechnet man den Stickstoffgehalt von 1 g Proteus auf 27 mg, so würden durch die Selbstverdauung 15—50% der Eiweißstoffe des Bazillus nicht nur gelöst, sondern sogar tiefer gespalten worden sein. Wir kommen gleich auf diese Tatsache zurück, die dafür spricht, daß bei der Selbstverdauung neben den eigentlichen (hydrolytischen) Verdauungsenzymen auch solche, die Aminosäuren spalten, vorhanden sind. In der Tat hat N a w i a s k y auch auf unmittelbarem Wege die Entstehung solcher Enzyme („Aminazidasen“) nachgewiesen (§ 169). — Die Angaben M a l - f i t a n o s und Butkewitschs über die Möglichkeit, proteolytische Enzyme aus den Leibern von Schimmelpilzen zu gewinnen, wurden schon erwähnt (S. 491). Sie ähneln offenbar in ihren Eigenschaften und Leistungen der Endotryptase, doch bleibt es unbestimmt, ob nicht noch daneben die gewöhnlichen nach außen abgesonderten Verdauungsenzyme in Frage kommen. Durch Zerreiben der endotrophen Mykorrhizen (Wurzelpilze) von Podocarpus (vgl. § 202) hat auch S h i b a t a ⁴⁾ nach dem Vorgange von F e r m i und B u s - c a g l i o n i ⁵⁾ ein proteolytisches Enzym dargestellt, das Fibrin in schwach saurer Lösung in Albumosen und Peptone spaltet. Er führt es freilich nicht auf die Pilze der Mykorrhizen, sondern auf die Wirtszellen zurück, die durch Vermittelung dieses Enzyms in der Lage seien, die Eiweißsubstanzen der mit ihnen in Symbiose lebenden Pilze auszunutzen. Daß die in den Schimmelpilzen enthaltenen Endoenzyme auch zur Selbstverdauung führen, ist von vornherein wahrscheinlich. So erklären sich wohl die großen Stickstoffverluste, die in ausgewachsenen, aber hungernden Kulturen der Eurotiosis Gayoni nach M a z é

1) Journ. med. research. 1905.

2) In unseren Beobachtungen neigte dagegen gerade dieser Bazillus wenig zur Selbstauflösung (S. 22).

3) Arch. f. Hyg. 66. 222.

4) Jahrb. wiss. Bot. 37. 673, 1902.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5, 1899.

(S. 61) bei Sauerstoffzutritt oder -abschluß eintreten. Daß in diesem Fall mit dem Stickstoffverlust ein Gewinn an Kohlenhydraten (Zellulose?) und ein Fettverlust unter aëroben Bedingungen Hand in Hand geht, haben wir schon a. a. O. erwähnt. Sicher sind dabei nicht nur tryptische Fermente im Spiel (vgl. § 229).

Auch die *Protozoen* entbehren nicht der intrazellularen Enzyme, ja sie bedürfen ihrer zur Verdauung der durch amöboide Bewegungen oder Mundöffnungen aufgenommenen Nahrungskörper (Bakterien, Algen usw.). Die Verdauung erfolgt bei schwach saurer Reaktion, wie sich durch Zusatz von Lackmustinktur oder besser Neutralrotlösung feststellen läßt. *Mouton* (a. a. O.) ist es gelungen, durch Glycerin aus Amöbenkulturen ein Enzym zu gewinnen, das bei neutraler oder schwach saurer oder schwach alkalischer Reaktion Fibrin, Gelatine, aber auch tote Bakterien verdaut. Lebende werden nicht angegriffen. Offenbar muß der intrazellularen Verdauung also die Tötung der Bakterien durch andere Kräfte der „Phagozyten“ vorhergehen (vgl. S. 24).

Die besprochenen intrazellularen Enzyme der Mikroorganismen ähneln in ihren Produkten am meisten den autolytischen Fermenten der tierischen Zellen, die wir durch die Arbeiten von *Salковский*¹⁾, *Jacoby*²⁾, *Friedr. Müller*³⁾ u. a. kennen gelernt haben. Die Eiweißspaltung geht im allgemeinen auch hier etwas weiter als bei der Trypsinverdauung, ebenso wie eher eine saure als eine alkalische Reaktion den Zerfall befördert. — Zweifelhaft ist noch, ob es sich im einzelnen Falle um eine Einheit oder um eine Vielheit von Enzymen handelt. Wir sehen dabei ganz ab von den Fett-, Lezithin-, zuckerspaltenden, reduzierenden, oxydierenden und synthetischen Enzymen, die, wie das Beispiel des Hefepreßsaftes zeigt, wohl mehr oder weniger regelmäßig mit den proteolytischen vergesellschaftet, aber bisher sonst nur ausnahmsweise studiert worden sind⁴⁾. Bedeutsamer ist hier für uns das Vorkommen von solchen hydrolytischen Enzymen, die wie das *Erepsin*, die *Nuklease*, *Arginase*, *Guanase* ebenfalls gewisse Eiweißkörper oder deren Abkömmlinge spalten. Am allerwichtigsten aber ist die Frage, ob und wie häufig neben den Enzymen, die die mehr oder weniger verwickelten Stickstoffverbindungen nur durch Hydrolyse

1) Zeitschr. f. klin. Med. 17. Suppl. und „Autolyse“ in Deutsch. Klin. 1903/04.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30 und 33 und Ergebnisse der Physiol. 1, 1902 Lit.

3) 20. Kongreß f. innere Med. 1902.

4) So hat *Pfersdorff* (Zeitschr. f. Tiermed. 8, 1904) in autolytierten Milzbrandbazillen nicht nur ein gelatinelösendes Enzym und Lab, sondern eine Lipase und manchmal Diastase gefunden.

spalten, solche vorkommen, die Aminosäuren vollständig in ihre Bestandteile zerlegen, also den eigentlichen Gärungsenzymen entsprechen würden. In allen Fällen von Selbstverdauung, wo man wegen des übervgewöhnlich reichlichen Vorkommens von Ammoniak diesen nicht mehr als Amidstickstoff betrachten kann, wird man in der Tat nicht mehr von tryptischen Fermenten oder Endotryptasen, sondern von neben ihnen vorhandenen „Aminazidasen“ sprechen müssen. Daß alle Preßsäfte, Azetonpräparate usw.; z. B. auch die der Hefen solche Aminazidasen enthielten, ist bisher nicht klar bewiesen. Im Gegenteil zeigen gerade die mit letzteren am Leuzin, Tyrosin u. a. gemachten Erfahrungen, daß sie diese Aminosäuren nicht zu spalten vermögen, während die lebende Hefe bis zu einem gewissen Grade dazu imstande ist (§ 173). Wohl scheinen dagegen bei der Selbstverdauung der Proteus- und Pyocyaneusbazillen (Nawiascky, Sera) tiefere Spaltungen zu erfolgen¹⁾. Daß die erstgenannten Bakterien wirklich Aminazidasen bilden, werden wir später erörtern (§ 169).

Eine offene Frage ist ferner, in welchem Verhältnis die intrazellulären Verdauungsenzyme stehen zu den im § 165 besprochenen, nach außen abgesonderten proteolytischen Enzymen der Mikroorganismen. Ist die scharfe Scheidung beider, wenigstens in der Theorie, berechtigt, wirken die ersteren z. B. nur bei saurer, die letzteren nur bei alkalischer Reaktion? Dann würde man annehmen müssen, daß die Proteolyse, die wir bei den in saurer Lösung wachsenden Schimmelpilzen beobachten, wie bei den Hefepilzen allein auf die durch den Zerfall von Zellen frei werdenden Enzyme zurückzuführen wäre, während sie in alkalischer Lösung auch durch ein Verdauungsenzym bedingt wäre. Aber auch bei den Bakterien wird man, wenn man die Proteolyse in alten Kulturen untersucht, wohl stets erwarten müssen, mindestens eine Mischung der durch beide Arten von Enzymen bedingten Spaltungsprodukte zu erhalten, da in solchen Kulturen immer der größte Teil der Mikroorganismen zugrunde gegangen sein und die intrazellulären Enzyme entbunden haben wird. In jüngeren Kulturen wird das überall da wohl ebenfalls in mehr oder minder großer Ausdehnung eintreten, wo die Lebensdauer der Individuen eine kurze ist (§ 36). Umgekehrt besteht auch die Möglichkeit, daß die ursprünglich natür-

1) Bei der Autolyse von Organen hat schon Jacoby die Ammoniakbildung auf eine tiefere Spaltung zurückgeführt, weil sie nicht auf Kosten des (durch Säuren abzusplaltenden) Amidstickstoffs erfolgte, sondern auch dieser vermehrt war. Auch die Abspaltung von Kohlensäure, Schwefelwasserstoff, Bernsteinsäure, Pentamethylendiamin, hat man bei der Autolyse gelegentlich beobachtet. Wieweit hier eine mangelhafte Antisepsis die Schuld trägt, wäre natürlich noch auszumachen.

lich in den Zellen gebildeten Ektoenzyme von ihnen längere Zeit festgehalten werden, also auch intrazellular wirken. Wir erinnern daran, daß ja auch manche andere hydrolytische Enzyme, die als Ektoenzyme bezeichnet werden, weil sie leicht aus Filtraten zu gewinnen sind, in diesen erst erscheinen, wenn die Zellen älter bzw. in Auflösung begriffen sind (S. 234, 238, 241). Die Unterschiede zwischen Ekto- und Endoenzyme sind also keine scharfen.

Schließlich sind noch die Fragen zu beantworten, welche Bedeutung die Endotryptase für die Zellen selbst hat, aus denen sie sich darstellen läßt, und wie es sich erklärt, daß die Selbstverdauung nicht schon die wachsenden Zellen ergreift. Was den ersten Punkt anlangt, so liegt der Nutzen der intrazellularen Verdauungsenzyme für die Ernährung mit diffusiblen und daher wohl ohne weiteres in die Zellen aufgenommenen Eiweißstoffen auf der Hand. Entweder werden diese durch die Endoenzyme zur Assimilation oder zur Kraftlieferung (durch tiefere Spaltungen, die ebenfalls im Protoplasma vor sich gehen) vorbereitet. Bei den nicht mit Ektoenzymen versehenen Mikroben werden sie vielfach geradezu unentbehrlich sein. Was das Ausbleiben der Selbstverdauung bei wachsenden bzw. lebenskräftigen Zellen betrifft, so verweisen wir auf früher Gesagtes (S. 209 u. 268).

§ 167. Tiefe Spaltung der Eiweißkörper. Fäulnis¹⁾. Tiefgehende, bei Sauerstoffabschluß vor sich gehende Spaltungen der Eiweißkörper sind von Alters her unter dem Namen der Fäulnis bekannt. Wenn man die letztere so begrenzen wollte, so würde man sich allerdings vielfach zu dem volkstümlichen Sprachgebrauch in Widerspruch setzen. Es gibt sehr tiefgehende Spaltungen der Eiweißkörper, die nicht als Fäulniserscheinungen bezeichnet werden, weil ihnen ein Merkmal fehlt: der faulige Geruch. Leider ist dieser chemisch bisher nur schlecht gekennzeichnet. Andererseits kann ein Fäulnisgestank auch da auftreten, wo wir kaum von tiefgehenden Spaltungen des Eiweißes in erheblichem Umfange sprechen dürfen. Ebensowenig glücklich ist man bisher gewesen, wenn man versucht hat, die Fäulnis durch bestimmte chemische Erzeugnisse zu charakterisieren. Als solche wurde z. B. der Schwefelwasserstoff, das Ammoniak und besonders das Indol und andere aromatische Körper angesehen. Die ersten beiden Stoffe werden aber bei allen oder fast allen Eiweißzersetzen gebildet und die letzteren können dort fehlen, wo man

1) Bezüglich der Untersuchungsverfahren, namentlich soweit sie die Aminosäuren und aromatischen Körper betreffen, muß auf die Lehrbücher und die einzelnen Arbeiten verwiesen werden (vgl. Anm. 1 auf S. 483). Zur Darstellung der flüchtigen Fettsäuren vgl. S. 312 Anm. 1, der fixen Säuren S. 331, der Gase § 221.

keinen Augenblick zweifeln würde, wegen der übrigen Spaltungsprodukte und des faulen Geruchs von Fäulnis zu sprechen. Auch die biologische Erklärung der Fäulnis als einer „Gärung der Eiweißkörper“, die nicht durch isolierbare Enzyme, sondern durch lebende Mikroorganismen hervorgerufen würde, ist nur in ihrem ersten Teile haltbar. Der Vergleich mit den Gärungen (Spaltungsgärungen) der Kohlehydrate ist sehr berechtigt, gerade ihr Beispiel lehrt uns aber, recht vorsichtig zu sein mit der Behauptung, daß wir es bei bestimmten chemischen Vorgängen nur mit sogenannten Lebensäußerungen, nicht mit enzymatischen Vorgängen zu tun haben. Im Gegenteil ist es u. E. durch die Entdeckung der Zymase und des Milchsäureenzym wahrscheinlich gemacht, daß auch alle übrigen enzymatischer Natur sind. So hat uns denn auch schon das Studium der „Selbstverdauung“ im § 166 gezeigt, daß die Zersetzung des Eiweißes dabei nicht unerheblich weiter getrieben wird, als durch die bis dahin ausschließlich bekannten hydrolytischen Verdauungsfermente, daß die sogenannte „Endotryptase“ manchmal wohl schon kräftiger spaltende Enzyme, die wir, weil die Zersetzung die Aminosäuren berührt, „Aminazidasen“ nannten, beigemischt enthält. Dazu sind schließlich die Feststellungen Berghaus' und Nawinskys gekommen, daß man wirklich tiefere Spaltungen des Eiweißes bzw. der Aminosäuren, wie sie sonst nur die Fäulnis zuwege bringt, auch mit Hilfe abgetöteter Proteusbakterien (§ 169) erhalten kann. Es wird sich also jetzt nur darum handeln können, zu bestimmen, ob das auch in anderen Fällen zutrifft.

Weit schlimmer als die Schwierigkeit der Bezeichnung ist der Mangel an ausreichenden tatsächlichen Unterlagen für eine gründliche Kenntnis der hierhergehörigen Zersetzungen. Die Fäulnis ist zwar von vielen hervorragenden Chemikern studiert worden, zum großen Teil aber noch zu einer Zeit, wo die Chemie der Eiweißkörper noch wenig entwickelt war. Gewöhnlich wurden zudem nicht die Wirkungen einzelner rein kultivierter Organismen, sondern diejenigen unbekannter Gemenge studiert. Etwas besser ist es in den letzten Jahren damit geworden. Doch bieten leider gerade die gründlichsten Untersuchungen Anlaß zu Zweifeln, weil ihre Resultate nicht selten im Widerspruch miteinander stehen. Zum Teil würden sich diese Widersprüche lösen, wenn die Ansicht Rettgers richtig wäre (s. u.), daß man trotz des besten Willens oft nicht mit Reinkulturen, sondern mit nachträglich verunreinigten gearbeitet hat. Diese Bemerkung wird jedem, der sich mit ähnlichen Untersuchungen befaßt hat, nur zu berechtigt vorkommen. Es ist gar nicht leicht, Massenkulturen in flüssigen Nährböden viele Tage oder Wochen hindurch rein zu erhalten. Ist dem aber so, dann ist ein Teil der vorliegenden

Arbeiten — man weiß leider nur nicht immer welche — wenigstens für die Entscheidung der Frage nach den Leistungen der einzelnen Mikrobenarten unbrauchbar geworden.

Ein Mangel besteht ferner darin, daß gewöhnlich nur wenige, und zwar gerade die verwickelten Eiweißsubstanzen dem Studium unterworfen wurden, während es doch so notwendig wäre, zu wissen, wie sich die einfacheren Spaltungsprodukte der Eiweißkörper, die Aminosäuren, zu den Mikroorganismen verhalten. Auch den Einfluß des Sauerstoffs, der doch für unsere Auffassung von der chemischen Natur der Zersetzungsprozesse von maßgebender Wichtigkeit ist, hat man nicht genügend berücksichtigt. Das Bild, das wir hier entwerfen können, ist daher ein recht lückenhaftes. Um Klarheit zu gewinnen, halten wir uns hier zunächst im wesentlichen nur an **R e i n - k u l t u r e n** (§ 168—175) und werden die Erscheinungen der in der Natur vorkommenden gemischten Fäulnis später besprechen (§ 178 ff.).

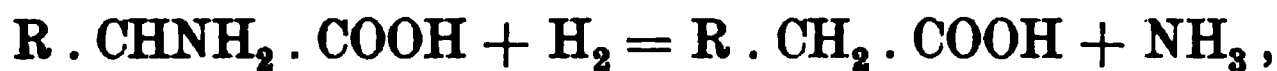
§ 168. **Fäulnis durch Anaërobier.** I. Wir beginnen mit den Anaërobiern, die nach Sanfelice, Bienstock, Rettger u. a. (§ 180) die Haupterreger der Fäulnis sind. Zu ihnen gehören einige pathogene Anaërobier wie Ödem-, Emphysem-, aber auch manche Rassen von Rauschbrandbazillen¹⁾. Die ersten Forscher, die mit Reinkulturen arbeiteten, waren **N e n c k i**²⁾ und seine Schüler **S i e b e r**, **B o v e t**, **K e r r y** und **S e l i t r e n n y**. Geprüft wurde zunächst die Zersetzung des Serumeiweißes durch Rauschbrand-, Ödembazillen und zwei Saprophyten (*B. liquefaciens magnus* und *spinosus*). Sie verlief im wesentlichen gleichartig. Besonders genau wurden die Gase und aromatischen Stoffe untersucht. In erster Linie wird **K o h l e n s ä u r e** (97%), daneben **e t w a s W a s s e r s t o f f**, nur vorübergehend **S u m p f - g a s**, ferner **S c h w e f e l w a s s e r s t o f f** und **M e t h y l m e r - k a p t a n** (beide aus Zystin³⁾), aber kein freier Stickstoff abgeschieden. Durch Schütteln mit Äther wurden erhalten die aromatischen Säuren, die **P h e n y l p r o p i o n s ä u r e n**, die **P a r a - o x y p h e n y l p r o p i o n s ä u r e** (Parakumarsäure) und die **S k a - t o l e s s i g s ä u r e**, die später von Ellinger als Indolpro-

1) Vgl. die auf S. 352 ff. angezogene Literatur über Anaërobier, die auch in dieser Beziehung Widersprüche aufweist. Nenckis Rauschbrandbazillen waren avirulent, also vielleicht nicht echt. Auch (Spießbazillen und) Spirochaeten, einschl. der *Sp. pallida* (?) sind anaërobe Fäulniserreger. Mühlens u. Hartmann, Zeitschr. Hyg. 55; Mühlens klin. Jahrb. 1910.

2) Sitzungsber. Wien. Akad. 95. II b, 1889, Monatsschr. f. Chemie 9 u. 10, 1889; Annal. microgr. 1890; Baumgartens Jahresber. 1889. 480ff.

3) Vgl. über die schwefelhaltigen Abkömmlinge des Eiweißes § 205 u. 206, über das Taurin § 190.

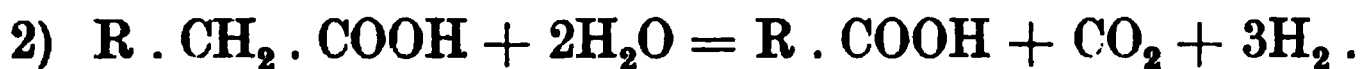
pionsäure erkannt wurde. Es sind das die drei Säuren, die durch Reduktion der aromatischen Aminosäuren des Eiweißes, des Phenylalanins, Tyrosins und Tryptophans unter Abspaltung von Ammoniak gebildet werden. Allgemein würde folgende Formel dafür gelten können:



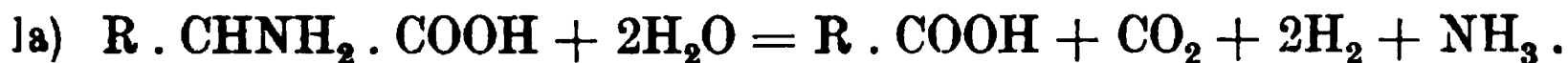
oder, wenn wir den Wasserstoff vom Wasser herleiten:



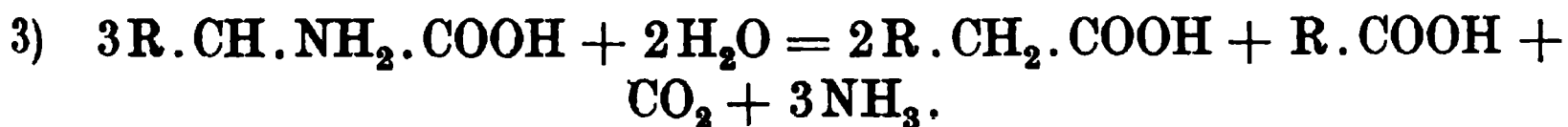
wobei der abgeschiedene Sauerstoff nicht frei, sondern zur Oxydation anderer Stoffe verwendet würde. Bei der Zersetzung der Gelatine, die ja des Tyrosins und Tryptophans ermangelt, fehlten nach Seli-trenny die letzten beiden Säuren, und trat neben der Phenylpropionsäure die Phenylelessigsäure auf, die unter Abspaltung von Kohlensäure durch Oxydation aus ihr entsteht, d. h.



Wollte man die niedere Säure unmittelbar von der Aminosäure ableiten, so hätte man



Das würde die Entbindung viel freien Wasserstoffs voraussetzen, die nicht beobachtet wird. Nehmen wir aber an, daß die beiden Säuren gleichzeitig und unabhängig von anderen Stoffen aus den Phenylalanin hervorgingen, so würde durch die Bildung von drei Molekülen der Phenylpropionsäure der zur Entstehung von einem Molekül Phenylelessigsäure nötige Sauerstoff frei werden, oder allgemein ausgedrückt hätten wir:

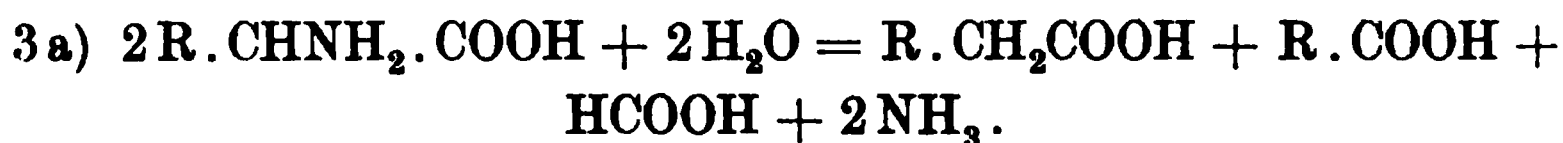


Die höhere und die nächst niedere Säure ständen also im Mengenverhältnis von 2:1; den drei Molekülen Säure würden ebensoviel Ammoniak und außerdem noch ein Molekül Kohlensäure entsprechen. Die gesamte Umwandlung machte den Eintritt von zwei Wassermolekülen nötig. So nahe es liegt, eine solche Zersetzung der aromatischen Aminosäuren anzunehmen, so sehr fehlt es noch an analytischen Belegen dafür, obwohl gerade die aromatischen Bestandteile neben der Menge der übrigen Zerfallsstoffe des Eiweißes verhältnismäßig leicht erkennbar sind.

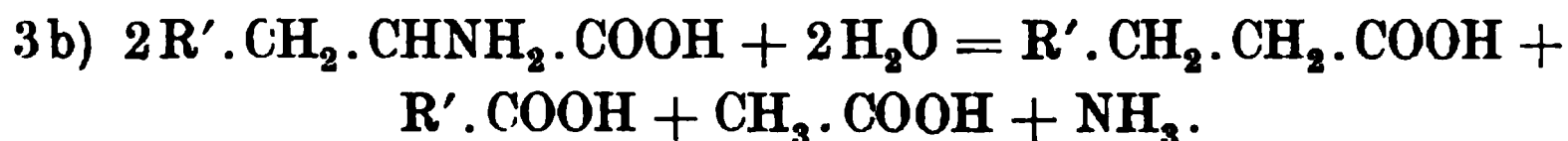
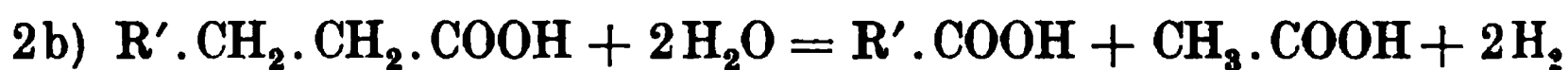
Versuche, die mit reinen Aminosäuren angestellt wurden (s. u. N a w i a s k y § 169), lieferten die Beweise auch noch nicht. Denkbar wäre freilich noch die Bildung von Ameisensäure an Stelle der Kohlensäure. Dann hätten wir statt 2):



und statt 3):



An Stelle der Ameisensäure könnte aber auch Essigsäure auftreten, wenn die Säure $R \cdot COOH$ durch die nächstniedere Säure ersetzt würde. Wir könnten das durch die Formel ausdrücken:



Bei der Zersetzung des Leuzins durch den Proteus (§ 169) werden wir auf diese Formeln zurückkommen. Daß sie für die a r o m a t i s c h e n Aminosäuren Bedeutung haben sollten, ist kaum anzunehmen.

K e r r y fand weiter bei der Fäulnis des E i w e i ß e s durch den Ö d e m b a z i l l u s neben S u m p f g a s noch ein übelriechendes Öl von der Zusammensetzung $C_8H_{16}O_4$, „das nach seiner Reaktion und seinem Verhalten bei der Oxydation in die Reihe der Ketone oder Aldehyde zu gehören scheint.“ Bei der Fäulnis des E l a s t i n s durch den Rauschbrandbazillus beobachtete Z o j a ¹⁾ neben K o h l e n s ä u r e , W a s s e r s t o f f und Merktan ebenfalls S u m p f g a s , ferner von flüchtigen Säuren B u t t e r - und B a l d r i a n s ä u r e zu annähernd gleichen Teilen, P h e n y l p r o p i o n s ä u r e , eine aromatische O x y s ä u r e und A m m o n i a k . Auf die flüchtigen Säuren kommen wir gleich zurück; das was über die Entstehung von Aldehyden bekannt ist, bringen wir später (§ 173). Das S u m p f g a s sei an dieser Stelle besonders hervorgehoben, weil es sonst als Erzeugnis von Reinkulturen kaum gefunden worden ist, aber bei einer besonderen Form der gemischten Fäulnis nach O m e l i a n s k y (§ 179) eine große Rolle spielt. Es (wie es wohl versucht ist) aus dem Glykokoll (Aminoessigsäure) herzuleiten, geht nicht wohl an, weil Eiereiweiß, das davon nichts enthält, auch Sumpfgas gibt. Aber Essigsäure, die der Sumpfgasgärung fähig ist (§ 141), kommt ja auch sonst bei der Spaltung von Aminosäuren vor, z. B. bei der Vergärung der Bernsteinsäure

1) Zeitschr. physiol. Chem. 23, 1897.

und des Leuzins durch Proteus (§ 169), ebenso Buttersäure, für die wir übrigens auch eine Sumpfgasgärung kennen (§ 145).

Die Zersetzung des Fibrins durch den typischen Vertreter der Fäulnisbazillen, den *Bac. putrificus*, wurde von Biensstock¹⁾ untersucht. 100g Fibrin in 500g eiweißfreier Salznährlösung aufgeschwemmt, wurde unter Entwicklung übelriechender Gase zur völligen Auflösung gebracht. Daß dabei hydrolytische Enzyme mitwirken, ist sicher (s. o. Passini S. 489), so wurden denn auch nach 8—14 Tagen nachgewiesen Pepton, Leuzin, Tyrosin, daneben aber traten tiefere Spaltungen ein mit Bildung von Baldrian- und Buttersäure, Paraoxyphenylpropionsäure, Skatolkarbonsäure (Indolessigsäure nach Ellinger), ferner reichlich Ammoniak und Schwefelwasserstoff, sowie außerdem (primäre) Aminbasen. Den Aminbasen werden wir auch sonst, z. B. bei der Eiweißzersetzung durch Cholera-bazillen, begegnen und dort ihre vermutliche Bildungsweise behandeln (§ 170).

Auch andere Anaërobier, wie das *Clostridium foetidum*, die Bazillen des Ödems und Rauschbrandes erzeugen nach Biensstock, der *Bac. perfringens* nach Tissier und Martelly²⁾ eine ähnliche Fäulnis des Fibrins. Rettger³⁾ bestätigt diese Ergebnisse am *Putrificus* usw. für seine Fleisch-Eiernährböden. Alle drei Forscher stimmten darin überein, daß bei der reinen Anaërobierfäulnis Indol, Skatol und Phenol, die Endprodukte der Zersetzung des Tryptophans und Tyrosins⁴⁾ fehlten. Indessen gibt es offenbar Ausnahmen von dieser Regel. So hatte schon Kitasato⁵⁾ sowohl bei dem *Tetanusbazillus*, der nicht als echter Fäulniserreger bezeichnet werden kann, als bei Ödem- und Rauschbrandbazillen starke Indolreaktion erhalten. Ferner erzeugte nach Salus⁶⁾ der *Bac. saprogenes carnis*, der dem *Putrificus* nicht fernsteht, aus Fibrin neben Pepton, Leuzin, Tyrosin, Skatolkarbonsäure (Indolessigsäure), Oxysäure, Buttersäure, Kohlensäure, Ammoniak, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff sowohl Indol als Skatol und Phenol, während ein zweiter Anaërobier, das *Clostridium foetidum*

1) Arch. f. Hyg. 36, 1899.

2) Annal. Pasteur 1902. 892.

3) Stud. Rockefeller. Institute f. med. research. 7. Nr. 4, 1907.

4) S. über deren Bildung beim *Bac. proteus* § 169.

5) Zeitschr. f. Hyg. 7. 519.

6) Arch. f. Hyg. 51, 1904.

carnis, allerdings nur Spuren von Indol und Skatol bildet. Ein Erreger der G a s p h l e g m o n e, wie es scheint ein regelmäßiger Darmbewohner und Fäulniserreger (Bac. perfringens?), entwickelt ferner nach P a s s i n i¹⁾ in Blutserumkulturen viel Indol.

Nach den meisten Analysen sind die flüchtigen Fettsäuren der Anaërobierfäulnis gemischter Art. Indessen fand R o d e l l a²⁾ bei der Zersetzung von Milch durch verschiedene Stämme des Putrificus (aus Milch oder Gasphlegmone) entweder nur K a p r o n - oder B a l d r i a n - oder B u t t e r s ä u r e. Das Kasein soll dabei fast völlig zerstört, der Milchzucker unberührt geblieben sein. Am häufigsten begegnen wir sonst einer Mischung von Baldrian- und Buttersäuregärung³⁾. Abweichend sind aber die Befunde, die G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h⁴⁾ mit ihrem fäulniserregenden Buttersäurebazillus (S. 356) in Wittes Pepton erhielten: es wurden nämlich M i l c h s ä u r e⁵⁾ und daneben nur in geringer Menge flüchtige Säuren, namentlich K a p r o n - und P r o p i o n s ä u r e (Buttersäure?) entwickelt. Alle diese Angaben setzen einem Erklärungsversuch große Schwierigkeiten entgegen. Niemals finden wir das in Gleichung 3 ausgedrückte Verhältnis wieder, welche Aminosäure wir auch als hauptsächlich angegriffen betrachten. Gehen wir z. B. vom Leuzin aus, als dem quantitativ wichtigsten Bestandteil des Eiweißes, so treffen wir nicht in einem einzigen Fall die Verbindung 2 Moleküle Kapronsäure + 1 Molekül Baldriansäure. Die erstere fehlt sogar meist in der Analyse, damit also die einzige Säure, deren Bildung aus dem Leuzin (Aminoisokapron- oder Aminoisobutylelessigsäure) durch Reduktion (und Atomverschiebung) erfolgen könnte, während die aus ihr durch O x y d a t i o n entstehende Baldriansäure am häufigsten vorkommt, und diese sogar meist mit der Buttersäure vergesellschaftet ist, die aus der letzteren oder dem Leuzin selbst nur durch w e i t e r e O x y d a t i o n abzuleiten ist. Andere genügend reichliche Quellen für die beiden Säuren liegen aber neben dem Leuzin kaum vor. Erwägt man nun ferner, daß regelmäßig außerdem noch

1) Zeitschr. f. Hyg. 49, 1905.

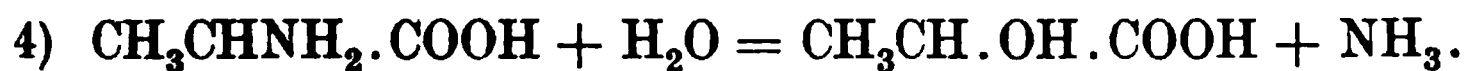
2) Annal. Pasteur 1905. 809.

3) Bei der gemischten anaëroben Fäulnis des Blutes fanden B e r t h e l o t und A n d r é Butter-, Propion- und Kapronsäure (vgl. § 179), bei der des Leuzins allein N e n c k i Baldriansäure. Bei den Aërobiern (s. u. § 169 ff.) wiegt Buttersäure vor, daneben findet sich aber auch oft Baldriansäure, in anderen Fällen Essigsäure; nur in kleineren Mengen Ameisen- und Propionsäure und die höhere Fettsäure.

4) Arch. f. Hyg. 60. 55, 1907.

5) Über sonstige Milchsäurebildung aus Eiweiß s. u. § 174. Über Propionsäure s. o. Anm. 3.

viel K o h l e n s ä u r e gebildet wird, so können wir die Säurebildung nicht mehr als einen von anderen Vorgängen unabhängigen Prozeß betrachten, sondern müssen nach anderen durch Reduktion entstandenen Körpern suchen, um einen Ausgleich für die zahlreichen Oxydationsprodukte zu haben. Als solche könnten Schwefelwasserstoff und Merkaptan, Wasserstoff und Sumpfgas, Amine, Alkohole und Aldehyde in Betracht kommen. Die letzteren drei Arten von Stoffen entstehen zwar wahrscheinlich meist mit oder ohne Wasseraufnahme unabhängig von anderen Körpern unter Abspaltung von Kohlensäure aus den Aminosäuren, wir werden aber später sehen, daß allerdings auch ihre Bildung denkbar ist unter Freiwerden von Sauerstoff (Gleichung 10 und 11 auf S. 536). Wasserstoff und Sumpfgas sind zu unbeständig in ihrem Vorkommen, um in Frage zu kommen, und das Sumpfgas bildet sich zudem nach der gewöhnlichen Annahme ebenfalls, ohne daß dabei Sauerstoff für andere Oxydationen frei würde, nämlich aus der selbst durch Oxydation entstehenden Essig- oder Buttersäure. Die schwefelhaltigen Körper endlich, deren Bildung am ehesten verständlich wäre als eine Reduktion, die durch den Wasserstoff des Wassers vermittelt, und bei der Sauerstoff für andere Prozesse verfügbar würde, werden ebenfalls in zu kleinen Mengen erzeugt. Es bleibt danach vorläufig unklar, woher der Sauerstoff kommt, der zur Bildung der Baldrian- und Buttersäure nötig ist. Eher verständlich wären die Fälle, in denen Propionsäure und Kapronsäure als Hauptprodukt der Spaltung gebildet würden, denn sie könnten durch Reduktion nach Gleichung 1 aus Leuzin (R o d e l l a, G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h, B e r t h e l o t und A n d r é) und Alanin (Aminopropionsäure) hervorgehen. Das Fehlen von flüchtigen Fettsäuren als entsprechender Oxydationsprodukte in diesem Falle könnte man noch hinnehmen, da man in der Kohlensäure, die durch völlige Verbrennung der betreffenden Aminosäure oder anderer Körper entstanden sein könnte, einen Ersatz dafür hätte. Daß solche Verbrennungen wirklich in gewissem Umfange bei der Fäulnis vorkommen, wird durch die Erfahrungen, die N a w i a s k y z. B. an der Asparaginsäure gemacht hat, wahrscheinlich (§ 169). Das sonst ungewöhnliche Erscheinen von Milchsäure (G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h) ließe sich theoretisch am einfachsten erklären. Entsteht doch aus dem Alanin durch Wasseraufnahme Ammoniak und Milchsäure nach der Gleichung



Übersieht man die hier mitgeteilten Ergebnisse, so erscheinen sie offenbar in vielen Beziehungen recht unbefriedigend. Von allem übrigen

abgesehen, fällt schon die ziemlich beschränkte Anzahl der Fäulnisprodukte auf. Müßte sie nicht viel größer sein in Anbetracht der zahlreichen Arten von Aminosäuren? Werden bei der Anaërobierfäulnis nur einzelne von ihnen angegriffen? Oder sind die Analysen sämtlich als recht unvollkommen zu betrachten? Wir neigen zu der letzteren Ansicht. Natürlich ist die Schwierigkeit der Aufgabe nicht zu verkennen. Sie kann unseres Erachtens nur dadurch schrittweise überwunden werden, daß man die einzelnen Aminosäuren der Anaërobierfäulnis unterwirft, dann zu Mischungen von Aminosäuren fortschreitet usw. Bisher sind keine Versuche dazu gemacht worden.

Nach A c h a l m e ¹⁾ geben alle Anaërobier, die Eiweiß zersetzen, außer den erwähnten Stoffen, besonders in konzentrierter Peptonlösung, ein schwärzliches Pigment, das den Melaninen (und Humusstoff envgl. § 118 u. 158) ähnlich zu sein scheint (s. auch R o d e l l a).

§ 169. Fäulnis durch Proteusbazillen. II. Den Anaërobiern durch seine fäulniserregenden Eigenschaften am nächsten kommt der bei Luftabschluß und -zutritt gedeihende Bac. proteus vulgaris und seine teils schlechter verflüssigenden, teils grün fluoreszierenden Abarten. Weil er sich leichter züchten läßt, ist er von allen Forschern, die sich mit der Ursache der Fäulnis beschäftigt haben, seit R o s e n b a c h und H a u s e r immer wieder gefunden worden und sogar vielfach als alleiniger oder wesentlicher Erreger derselben betrachtet worden (§ 180). Das trifft allerdings nach S a n f e l i c e , B i e n s t o c k , R e t t g e r u. a. (s. o. § 168), die das regelmäßige Vorkommen der Anaërobier in faulen Gemischen festgestellt haben, nicht zu. Nach den beiden letzten Autoren wäre der Proteus vulgaris sogar nicht einmal imstande, Eiweißkörper, wie das Fibrin, Fleisch- und Eieralbumin in Fäulnis zu versetzen. Trotzdem ist nach unseren eigenen und fremden Beobachtungen nicht zu leugnen, daß er Blutserum, Kasein usw. unter Bildung von Fäulnisgestank löst. E m m e r l i n g ²⁾ konnte auch Weizenkleber durch Proteus vulgaris in stinkende Fäulnis versetzen. Die dabei entwickelten Gase bestanden zu 46% aus K o h l e n s ä u r e , zu 38% aus W a s s e r s t o f f ³⁾ und zu 16% aus S t i c k s t o f f (?). Nach 14tägiger Fäulnis wurden aus 600 g Kleber durch Destillation erhalten 15,5 g Chlorammonium, entsprechend 10 g A m m o n i a k , 1,05 salzsaure Basen, vor allem T r i m e t h y l a m i n und B e t a i n und 0,65 g P h e n o l , ferner flüchtige Fettsäuren, deren Menge an

1) Annal. Pasteur 1902, 652.

2) Ber. chem. Ges. 1896. 2711.

3) Stammt wohl aus den beigemischten Kohlehydraten.

Kalk gebunden 36,5 g betrug. Unter ihnen herrschte Buttersäure vor, daneben fand sich Essigsäure in beträchtlicher, höhere Fettsäuren und Ameisensäure in geringerer Menge. Taylor¹⁾ wies ferner bei der Fäulnis des Kaseins durch *Proteus vulgaris* Deuteroalbumosen und Pepton, Monoaminosäuren, Diaminosäuren (Histidin und Lysin), Tyrosin, Indol und Skatol nach. Harnstoff, Harnsäure und Purinbasen wurden nicht gefunden. Tissier und Martelly²⁾ erhielten aus der Zersetzung von Eiweiß und Peptonen Leuzin, Amine, Indol, Phenol und flüchtige Fettsäuren.

Soll man nun alle diese Angaben, wie Bienstock und Rettger es zu tun scheinen, durch unabsichtliche Verunreinigungen der Proteuskultur durch Anaëroben erklären, oder liegen die Unterschiede in den Angaben darin, daß die einzelnen Forscher mit verschiedenen Eiweißstoffen, mit Beimischungen von Kohlenhydraten oder gar mit anderen Bakterien gearbeitet haben? Eine Wiederholung der Versuche wäre von diesen Gesichtspunkten aus sehr erwünscht. Jedenfalls steht fest, daß vom *Proteus* die aromatischen und namentlich der Indolkern des Eiweißes tiefer gespalten werden, als von den meisten Anaëroben.

Die Indolreaktion wird von allen Autoren beim *Bac. proteus* angegeben. Sie tritt nicht auf, wenn in der Kultur Zucker vorhanden ist, der durch den Bazillus in saure Gärung versetzt wird, wie z. B. Traubenzucker. Die Gegenwart von Milchzucker hindert die Indolbildung beim *Proteus* nicht, weil er ihn nicht angreift, wohl beim *Bac. coli*, der dazu imstande ist. Es handelt sich offenbar um eine schädliche Wirkung der Säure, die vielleicht vergleichbar ist mit dem hemmenden Einfluß der sauren Reaktion auf die Trypsinverdauung. Auch die Bildung stinkender Fäulnisprodukte wird durch die saure Vergärung des Zuckers verhindert (§ 186). Nach Feltz³⁾ fehlt die Indolreaktion ferner bei Kulturen in Abkochungen von frischem Eiweiß und Fleisch, vielleicht weil hier die Stammkörper, aus denen das Indol hervorgeht, fehlen. Sauerstoffzutritt soll die Reaktion begünstigen. Diese Bemerkung, die auch bei anderen Indolbildnern gemacht worden ist⁴⁾, und die Beobachtung, daß Indol überhaupt mit Vorliebe von Aërobiern gebildet wird (Bienstock), könnte dahin gedeutet werden, daß der Sauerstoff der Luft bei der

1) Zeitschr. physiol. Chem. 36, 1902.

2) Annal. Pasteur 1902. 12.

3) Archiv. méd. expér. 1899.

4) Th. Smith, Journ. exper. med. 1897 (*B. coli*).

Bildung des Indols mitwirke. In der Tat neigt N e n c k i¹⁾ zu dieser Auffassung. Nach ihm wird die Skatolaminoessigsäure (Indolamino-propionsäure oder Tryptophan) durch Reduktion mittelst H_2 zu Skatol-essigsäure (Indolpropionsäure) und Ammoniak (s. o.), die Skatol-essigsäure durch Oxydation mit $3O$ zu Skatolkarbonsäure (Indol-essigsäure), Kohlensäure und Wasser, die Skatolkarbonsäure durch Spaltung zu Skatol (Methylindol) und Kohlensäure²⁾, das Skatol durch Oxydation mit $3O$ zu Indol, Kohlensäure und Wasser. Es wechseln also Reduktion, Oxydation und Spaltung miteinander ab. In ganz ähnlicher Weise soll sich die Phenylaminopropionsäure in Phenylpropionsäure, Phenyl-essigsäure, Benzoesäure und das Tyrosin in Paraoxyphenylpropionsäure, Paraoxyphenyl-essigsäure, Parakresol, Paraoxybenzoesäure und Phenol verwandeln. Die meisten dieser Körper sind bei der gewöhnlichen gemischten Fäulnis, ein großer Teil bei der Fäulnis durch Anaërobier (§ 168) wirklich erhalten worden, zwei der Endprodukte (Indol und Phenol) namentlich bei der Fäulnis durch unseren *Bac. proteus vulgaris* und den *Bac. coli* (§ 174). Daß die Beteiligung freien Sauerstoffs bei der hier in Betracht kommenden Oxydation notwendig sei, ist aber nicht bewiesen. Im Gegenteil haben N e n c k i³⁾ selbst und seine Schüler J e a n n e r e t⁴⁾ und B r i e g e r⁵⁾ Skatol und Indol auch bei vollständigem Luftabschluß aus faulendem Eiweiß erhalten, und zwar in ziemlich gleicher Quantität, wie es bei Luftzutritt der Fall war. Die oben erwähnte Tatsache, daß K i t a s a t o u. a. in Kulturen verschiedener echter Anaërobier Indol gefunden haben, läßt sich auch nicht wegleugnen. Bilden kann es sich dabei nur durch eine i n n e r e O x y d a t i o n, wie sie bei allen Spaltungsgärungen vorkommt. Es liegt nahe, an die Vorstellung zu erinnern, die N e n c k i⁶⁾ selber bei anderer Gelegenheit über den „chemischen Mechanismus der Fäulnis“ entwickelt hat. Er macht darauf aufmerksam, daß die Fäulnisprodukte wesentlich dieselben sind wie diejenigen, die man erhält beim Schmelzen von Eiweiß mit Ätzkali. Wie man sich die Bildung der letzteren am besten erklären könne, indem man einen Zerfall der KHO

1) Sitzungsber. Wien. Akad. 98 II b S. 412, 1889.

2) Damit stimmt freilich nicht überein, daß die Skatolkarbonsäure nach S a l k o w s k y (Zeitschr. phys. Chem. 9, 8) durch die Fäulnis überhaupt nicht, oder fast nicht angegriffen wird. Eine Wiederholung dieser Versuche, sowie überhaupt die Prüfung der einzelnen in Betracht kommenden Körper auf ihre Zersetzungen wäre sehr erwünscht.

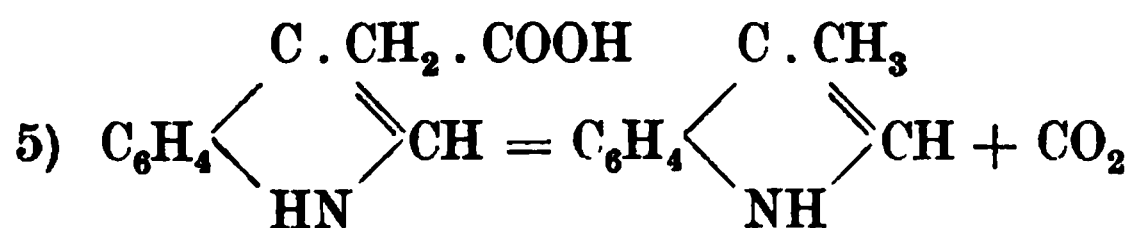
3) a. a. O. 145.

4) Journ. prakt. Chem. N. F. 15. 388.

5) Zeitschr. physiol. Chem. 3, 1879.

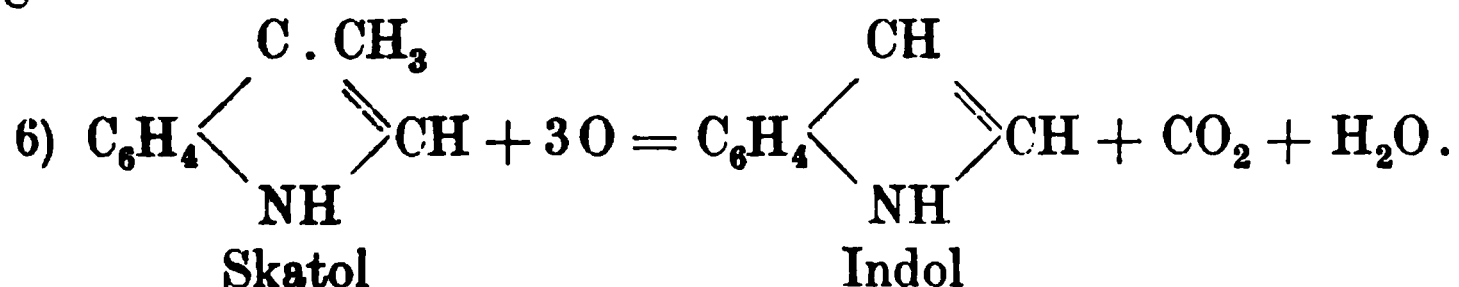
6) Ebenda 17. 105.

in H und KO annehme, von denen die erstere die Reduktion, die letztere die Oxydation veranlaßte, so würde vielleicht die Fäulnis ähnlich wirken durch eine Spaltung des Wassers in H und HO. Der Wasserstoff bewirkt z. B. die Reduktion der Indolaminopropionsäure zu Indolpropionsäure und Ammoniak, das Hydroxyl die Oxydation der Indolpropionsäure zu Indolessigsäure, und des Skatols zu Indol. Diese Abwechselung von Reduktion und Oxydation ist ja bei der Fäulnis nichts Neues, wir haben sie schon bei der Zersetzung der aromatischen Aminosäuren durch die Anaëroben, die freilich meist nicht bis zu Skatol, Indol und Phenol fortschreitet, angetroffen und ebenso bei den anaëroben Zersetzungen der übrigen Aminosäuren. Wir fragen auch hier wieder, wie wir die Reduktion und Oxydation quantitativ miteinander vereinigen sollen. Setzen wir als den einfachsten Fall, daß die Zersetzung der aromatischen Aminosäure auf ihre eigenen Kosten, d. h. unabhängig von anderen Stoffen erfolge, so haben wir schon früher festgestellt, daß nach Gleichung 3 auf S. 505 drei Moleküle Indolaminopropionsäure (Tryptophan) mit zwei Molekülen Wasser zwei Moleküle Indolpropionsäure, je ein Molekül Indolessigsäure und Kohlensäure und drei Moleküle Ammoniak ergeben würden. Die Indolessigsäure würde weiter sich umlagern zu je einem Molekül Skatol und Kohlensäure.



Bis zum Skatol würde also die Zersetzung unabhängig von anderen Stoffen vor sich gehen können unter den angegebenen Mengenverhältnissen der beiden Indolfettsäuren.

Woher kommt nun aber der Sauerstoff, der zur Bildung des Indols nötig ist?



Steht er zur Verfügung durch Reduktion von weiteren drei Molekülen Indolaminopropionsäure zu Indolpropionsäure nach Gleichung 1 auf S. 505? Dann würden 6 Moleküle Tryptophan 5 Moleküle Indolpropionsäure und 1 Molekül Indol; außerdem 6 Moleküle Ammoniak und 3 Moleküle Kohlensäure ergeben. Oder wird der nötige Sauerstoff unmittelbar aus dem Wasser entnommen? Dann würden auf jedes Molekül

Indol 3 Moleküle Wasserstoff frei werden. Oder endlich wird die Oxydation des Skatols zu Indol gar nicht aus der Zersetzung des Tryptophans allein bestritten, sondern aus anderen Quellen?¹⁾ Die Antwort auf diese Fragen, wie auf die entsprechenden, welche die Phenolbildung betreffen, steht noch aus. Sie würde wohl nur durch Züchtung von Reinkulturen indol- und phenolbildender Bakterien, z. B. des Proteus auf den betreffenden aromatischen Aminosäuren geliefert werden können. Nawiasky, der, wie wir gleich sehen werden, mit Proteus einen solchen Versuch angestellt hat, ist auf die Frage überhaupt nicht eingegangen. Leider ist es uns bisher bei der verwickelten Natur der Eiweißkörper unmöglich, in jedem einzelnen Falle zu sagen, welcher Reduktionskörper dem gefundenen Oxydationskörper entspricht und umgekehrt. Da die Unabhängigkeit der Indolbildung vom Luftzutritt erwiesen ist, so könnte man das reichlichere Auftreten von Indol bei manchen Aërobiern daraus erklären, daß der Luftsauerstoff die Bildung des „Indolfermentes“ wie die der Zymase (§ 91) befördert.

Einige neuere Arbeiten Berghaus' und Nawiaskys²⁾ aus dem Institute Rubners bringen uns willkommene Mitteilungen über das Verhalten des Proteus zu Albumosen, Peptonen, Aminosäuren usw. In seiner ersten Arbeit²⁾, die übrigens auch entsprechende Untersuchungen über einige strenge Aërobier (Vibrio Finkler, Bac. mesentericus, alcaligenes) bringt (§ 170 ff.) sucht Nawiasky festzustellen, in welcher Weise der Gehalt einer Peptonbouillon an Albumosen, Peptonen, Aminosäuren, Kreatin, Kreatinin, flüchtigen Basen (einschl. Ammoniak) und „Reststickstoff“ durch das Wachstum der Bakterien verändert wird. Auf die Methodik gehen wir hier nicht ein. In der ersten Wachstumsperiode, die 10 Tage umfaßt, verschwinden die Albumosen³⁾ schon fast vollständig und werden dabei offenbar nur zum kleinsten Teil in Leibesbestandteile, zum größten vielmehr in Peptone, flüchtige Basen und Reststickstoff verwandelt; Kreatin und Kreatinin, sowie die Aminosäuren nehmen dagegen ab. Das läßt sich wohl nur so erklären, daß die bei der Spaltung der Albumosen gebildeten Aminosäuren schnell weiter gespalten werden. In der zweiten Wachstumsperiode (weitere 10 Tage) schreitet die Ab-

1) Ein Indoläthylamin, das etwa wie das Phenyl- und Oxyphenyl-Äthylamin aus der aromatischen Aminosäure gebildet werden könnte, kommt dafür nicht in Betracht, weil alle diese Amine Reduktionsprodukte sind, die durch einfache Abspaltung von Kohlensäure entstehen (s. u. beim Cholerabazillus § 170).

2) Arch. f. Hyg. 64, 1908.

3) Der wesentlichste Bestandteil des „Peptons“.

nahme der Albumosen, von denen freilich nicht allzuviel mehr übrig geblieben ist, nur noch sehr langsam fort, dasjenige der Peptone dagegen um so schneller, hauptsächlich wieder zugunsten des Reststickstoffs und der Basen; aber auch die Aminosäuren nehmen jetzt etwas zu. In der dritten Periode, in der, nach der Eisenfällung zu urteilen¹⁾, die Bakterienernte noch in geringem Maße zunimmt, bleiben die Verhältnisse ähnlich. Nur verlangsamt sich die Abnahme der Peptone, und der Reststickstoff sowie die Fleischbasen beteiligen sich jetzt an der Zersetzung. N a w i a s k y schließt aus seinen Zahlen, daß der *Proteus* bazillus in weit erheblicherem Maße als die gleichzeitig geprüften Aërobier das Eiweiß zu Zwecken der Kraftlieferung verbrauche, d. h. tief spalte. In der Tat wird fast die Hälfte des vorhandenen Stickstoffs in Basenstickstoff verwandelt²⁾. Auch B e r g h a u s³⁾, der die tägliche Ammoniakbildung (Basen) des *Proteus* in Peptonbouillon mit der des *Cholera*-vibrio, *Prodigiosus*, *Coli*- und *Typhus*bazillus verglich, kam zu ähnlichen Ergebnissen, wenn auch hier selbst vom *Proteus* nur 24,5% des Stickstoffs in flüchtige Basen übergeführt wurden. Nachdem hierbei durch fortlaufende Keimzählungen wahrscheinlich gemacht worden war, daß an der Ammoniakbildung auch die nicht weiter wachsenden Zellen beteiligt seien, wurde auch versucht, festzustellen, ob enzymatische Vorgänge dabei mitwirkten. Es zeigte sich in der Tat, daß eine *Proteus*kultur, die nach 24 Stunden Wachstums 4,25 mg Ammoniak (auf 50 ccm) erzeugt hatte, nach Abtötung durch Toluol in der folgenden Woche etwa noch ebensoviel und mehr, ja, wenn man die letzte Bestimmung am 21. Tage, bei welcher der Bodensatz mit verarbeitet wurde, berücksichtigt, mehr als doppelt soviel Ammoniak neu bildete. Es machte dabei keinen Unterschied, wenn Bouillon mit Traubenzucker, die durch Vergärung desselben sauer geworden war, benutzt wurde. In einem weiteren Versuch, in dem (mit Azeton) abgetötete *Proteus*bazillen (93 mg Trockengewicht) in 800 ccm Bouillon eingebracht wurden, sah B e r g h a u s ebenfalls eine wenn auch geringere Ammoniakbildung.

In seiner zweiten Arbeit⁴⁾ studierte N a w i a s k y die Zersetzungen des A s p a r a g i n s, der Aminosäuren und einiger anderer Eiweiß-

1) Vgl. über die Bestimmung der Bakterienernte durch dies Verfahren § 234.

2) Ähnliche Zahlen für *Proteus* geben M a r c h a l und S t o k l a s a, aber auch für Aërobier zum Teil noch höhere (§ 171).

3) Arch. f. Hyg. 64, 1908. Der Stickstoff wurde hier zum Teil auch nach der H ü f n e r s c h e n Methode der Harnstoffbestimmung festgestellt.

4) Ebenda 66, 1908.

abkömmlinge durch den *Proteus*. Der erstere Stoff, das Aminobernsteinsäureamid, wird, wie sich bei seiner leichten Hydrolysierbarkeit und den früher von *Arnaud* und *Charrin* bei der Züchtung des *Pyocyaneus* in Asparagin erhaltenen Ergebnissen (§ 171) fast erwarten ließ, glatt unter Wasseraufnahme in asparaginsaures Ammoniak verwandelt (vgl. auch § 191). Dabei bleibt es aber nicht, sondern die Asparaginsäure wird weiter in Bernsteinsäure und Ammoniak als Haupterzeugnisse sowie Essigsäure und Kohlensäure gespalten¹⁾. Die Bernsteinsäure, deren Bildung bei der „Fäulnis“ des Asparagins schon *Hoppe-Seyler*²⁾ und *Tappeiner*³⁾ gesehen, muß aus der Asparaginsäure (Aminobernsteinsäure) durch Reduktion — Eintritt von 2 Wasserstoffatomen nach Formel 1 auf S. 505 entstehen; die Essigsäure, die auch *Tappeiner* neben Propionsäure (?) gefunden, kann entweder ebenfalls aus der Asparaginsäure durch Eintritt von 4 Wasserstoffatomen oder, wie es ein Versuch mit Bernsteinsäure wahrscheinlich machte (vgl. S. 443), aus der Bernsteinsäure durch Eintritt von 2 Wasserstoffatomen hervorgehen. Wenn man sich vorstellte, daß der dazu nötige Wasserstoff aus dem Wasser stammte, so bliebe Sauerstoff übrig, um die Asparaginsäure, Bernsteinsäure oder Essigsäure zu oxydieren und so die Bildung von Kohlensäure zu erklären. Da die Menge der reichlich vorhandenen Kohlensäure weder von *Tappeiner* noch von *Nawiasky* genau bestimmt, ferner auf etwaige Zwischenerzeugnisse und Reste von Asparaginsäure nicht gefahndet wurde, auch ein kleiner Fehlbetrag von Ammoniakstickstoff (3% des Gesamtstickstoffes) sich ergab, war eine genaue Stoffbilanz nicht möglich, immerhin zeigte sich, daß schon 24 Stunden nach Impfung von je 250 ccm die Nährflüssigkeit⁴⁾ mit 5 g *Proteus*bazillen die Verwandlung des Asparagins zu Asparaginsäure vollendet und ein Teil davon weiter zerlegt, nach 4 mal 24 Stunden fast 95% der Asparaginsäure gespalten sein mußte. Auf einen etwaigen Stoffansatz brauchte nach *Nawiasky* — in diesen Versuchen — nichts verrechnet zu werden, da ein Kontrollversuch ergab, daß der *Proteus* in dieser Nährlösung nur ein ganz schwaches Wachstum entfaltete⁵⁾. Es handelt sich also um reine

1) Nach 96 Stunden wurden aus 4,34 Asparagin gefunden 2,84 Bernsteinsäure, 0,28 Essigsäure, 0,872 Ammoniakstoff, 0,33 Kohlensäure. Das entwickelte Gas bestand zu 94,3% aus Kohlensäure, die übrigens allein bestimmt wurde.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 2. 13.

3) Zeitschr. f. Biol. 24. 116.

4) Außer 5% Asparagin nur Mineralsalze.

5) Es scheint das doch bei der guten Wachstumsfähigkeit des *Proteus* etwas wunderbar. An den Schlüssen *Nawiasky*s ändert sich freilich nichts, da im Hauptversuch bei der gewaltigen Einsaat sowieso ein Wachs-

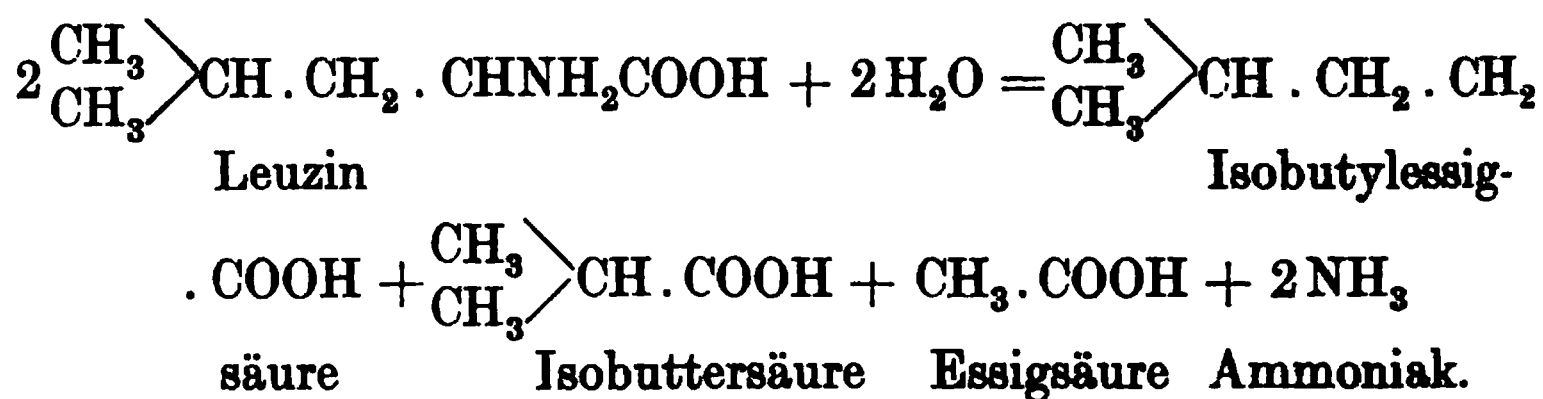
Zersetzungen, bei denen man nur noch festzustellen hatte, ob sie auf Enzyme zurückzuführen wären. Das gelang N a w i a s k y in einigen Versuchen, in denen mit Azeton abgetötete Proteusbazillen (je 8 g frische Bazillen) nach dem Trocknen mit Glaspulver und Toluol verrieben in 100—300 ccm 5prozentige Asparaginlösung gebracht worden waren. Im ersten Versuche wurden nach $4\frac{1}{2}$ Tagen bei 37° 49,3% des Asparaginstickstoffes in Ammoniak übergeführt, aber nur Spuren von Bernsteinsäure gebildet, also zwar die Hydrolyse des Asparagins zu Asparaginsäure durch die in den toten Leibern enthaltenen Enzyme glatt vollzogen, nicht aber die weitere Spaltung der Asparaginsäure. Soweit waren übrigens schon A r n a u d und C h a r r i n in ihrer Arbeit über den Bac. pyocyaneus gekommen (§ 71). Ähnlich fielen einige weitere Versuche aus. In einem letzten Versuch wurden aber aus 13 g Asparagin binnen 24 Stunden gebildet 0,47 Bernsteinsäure, 0,063 g Essigsäure und 1,344 g Ammoniakstickstoff¹⁾. N a w i a s k y berechnet daraus, daß auf enzymatischem Wege nicht nur 92% des Asparagins in Asparaginsäure verwandelt, sondern auch noch 6% der letzteren gespalten, d. h. teils zu Bernstein- und Essigsäure reduziert, teils verbrannt wurden. Damit wäre zum ersten Male die Existenz einer „Aminazidase“, wie wir die Aminosäure spaltenden Enzyme nennen können, durch den Versuch unmittelbar bewiesen²⁾. Über die dabei beobachtete Wärmeentwicklung, die N a w i a s k y ebenfalls bestimmte, vgl. § 237.

tum kaum stattfinden konnte (s. o. S. 135 D a v i d s Versuch). Man hätte nur argwöhnen dürfen, daß unter diesen Umständen eine Selbstverdauung der Keime stattfände, und ein Teil der gefundenen Stoffe, namentlich des Ammoniaks, aus den verdauten Bakterien selbst stammte. N a w i a s k y hat an diese Fehlerquelle gedacht, aber in einem Versuch mit Einsaat von 6,75 Proteus in 100 ccm einer Lösung, die nur Mineralsalze enthielt, nach 15 Tagen nur 99 mg Ammoniakstickstoff, in einem ähnlichen mit 5 g Proteus nach 4 Tagen nur 21 mg Ammoniakstoff gefunden. Danach vermutet er, daß 1 g Proteus mit 27 mg Stickstoff durch Selbstverdauung täglich nur etwa 1 mg Ammoniakstickstoff erzeuge, eine Menge, die für den obigen Hauptversuch kaum ins Gewicht fiele, vorausgesetzt, daß die Selbstverdauung hier nicht größeren Umfang besessen hat. Eine Bestimmung der Bakterienmenge wäre jedenfalls möglich gewesen und in künftigen Versuchen nicht zu vergessen. Wir selbst schließen übrigens aus diesem Versuche N a w i a s k y s, daß dadurch die Existenz von „Aminazidasen“ neben der Endotryptase im Proteus nachgewiesen worden ist (S. 499), daß also nicht bloß die Zersetzung von Asparaginsäure, sondern auch die anderer Aminosäuren des Eiweißes ein enzymatischer Prozeß ist.

1) Kohlensäure wurde nicht bestimmt.

2) Vgl. übrigens das in der vorletzten Anmerkung Gesagte und § 166.

In anderen Versuchen, die ebenfalls mit sehr großer, kaum wachstumsfähiger Einsaat von lebenden *Proteus*-bazillen angestellt wurden, prüfte derselbe Forscher die Zersetzung der Aminosäuren und einiger Basen und erhielt zunächst aus 4,4 g Asparaginsäure nach 49 Stunden 2,7 g Bernsteinsäure¹⁾, d. h. 56,6% der möglichen Menge und 0,302 g Ammoniakstickstoff, d. h. 65,9%. Die übrigen Stoffe folgen hier in der Reihenfolge, in der sie sich zur Spaltung bewährten. Am nächsten kam der Asparaginsäure das Leuzin (Aminoisobutylessigsäure). Aus ihm wurden nach 7 bzw. 14 Tagen 54,1 bzw. 58,7% der möglichen Menge Ammoniak, 27,3 bzw. 53,2% der flüchtigen Säure (Essig-, Butter-, Baldrian- und Kapronsäure), 38,4 bzw. 3,3% Amylalkohol (daneben Butylalkohol) entwickelt. Die Baldriansäure war, wie wir früher sahen (§ 168) schon vielfach bei der Fäulnis des Eiweißes und von Nencki durch Fäulnis des Leuzins erhalten worden, hier werden nur in der späteren Zeit die höheren, in den ersten Tagen nur die niederen Säuren gefunden. Nawiascky macht dafür die Mitwirkung des Luftsauerstoffs verantwortlich, durch die man freilich — aber auch doch nur wieder unter Annahme besonderer oxydativer Kräfte (Oxydasen?) der Zellen — die Bildung der niederen aus den höheren Fettsäuren erklären könnte. Wir glauben aber, daß auch die Essigsäure und Buttersäure (Isobuttersäure?) durch anaëroben Zerfall des Leuzins entstehen könnten. Die Formel 3b auf S. 506 gibt uns den Weg dazu an. Wir hätten nämlich



An die Stelle der Isobutylessigsäure (Isokapronsäure) könnte in dieser Gleichung aber nach einer später zu erörternden Umsetzung (11a in § 173) Isobutylalkohol und Essigsäure treten. Ein ähnlicher Alkohol wurde ja auch von Nawiascky erhalten.

Eher kommt neben der Verdunstung der Luftsauerstoff in Frage für das allmähliche Verschwinden des Amylalkohols. Auf dessen sonst hauptsächlich bei Pilzen beobachtete Bildung kommen wir weiter unten noch zurück. (§ 173). Nawiascky möchte für das spätere Stadium der Zersetzung annehmen, daß 4 Moleküle Leuzin unter abwechselnder

1) Vgl. dazu die Befunde Blumenthals u. a. von Bernsteinsäure in Milchkulturen des *Proteus* S. 329.

Aufnahme ($5\text{H}_2\text{O}$) und Abspaltung ($2\text{H}_2\text{O}$) von Wasser in 4 Moleküle Ammoniak je 2 Moleküle Kapronsäure (Isokapronsäure?) und Kohlensäure und je ein Molekül Baldriansäure (Isovaleriansäure?) und Amylalkohol (Isoamylalkohol?) zerfallen. Die Umsetzung entspricht in der Tat einer Addition unserer Formeln 3 auf S. 505 und 8 auf S. 534.

Nach dem bisherigen Ausfall der Analysen würden also für den Zerfall des Leuzins eine ganze Reihe von Spaltungsmöglichkeiten — oder vielleicht besser gesagt verschiedene Fermente — in Betracht kommen, die je nach dem Stadium der Kulturentwicklung in wechselnden Verhältnissen wirken. Bei den Milch- und Buttersäuregärungen der Kohlehydrate haben wir ähnliches erlebt (§ 98 u. 114).

Aus Aminovaleriansäure entsteht nach 7 Tagen durch Proteus neben Ammoniak Buttersäure, außerdem vielleicht Essigsäure (Ameisensäure?) und Butylalkohol und sehr wahrscheinlich die nicht vom Verfasser bestimmte Kohlensäure. Die flüchtigen Säuren betragen 29,5% der zu erwartenden Mengen, falls aus jedem Molekül nur ein Molekül Säure entstände.

Phenylalanin gibt ähnliche Mengen (24,3%) flüchtiger Säure, 28,1% Ammoniak und außerdem intensive Gelbfärbung (durch Benzil?) und Geruch nach Benzaldehyd. Bei der Besprechung der Fuselölbildung kommen wir darauf zurück (§ 173).

Tyrosin (Paraoxyphenylalanin) verhält sich fast gleich dem vorhergehenden. Von Phenolen wird nicht gesprochen.

Arginin ergab mit Proteus 20% Ammoniak und einen spermaähnlichen Geruch (Kadaverin oder Aminovaleriansäure s. u. § 170).

Aus Kreatin wurden nur 3,7% des Stickstoffs als Ammoniak entbunden. Da aber vom Kreatin selbst 8,64% nicht wiedergefunden wurden, ist die Briegersche Annahme vielleicht gestattet, daß Kreatin teilweise in Methylguanidin und Essigsäure gespalten wird. Der Umsatz zu Kreatinin (s. u. § 170) wurde nicht verfolgt.

Glykokoll¹⁾ (Aminoessigsäure) wird noch weniger angegriffen: 2,8% Ammoniakstickstoff. Von der zu erwartenden Essigsäure wurden nur 0,6 wiedergefunden.

Alanin (Aminopropionsäure) ergab in einem Versuch (4 Tage) ähnliche Verhältnisse, in einem zweiten 22 Tage fortgeführten wurden allerdings 18,5% fast reiner Essigsäure gefunden. Die übrigen Erzeugnisse wurden leider nicht untersucht. Ohne erhebliche innere oxydative Vorgänge ist die anaërobe Entstehung der Essigsäure aus Alanin wie die der Buttersäure aus Aminovaleriansäure und der Valerian-

1) Vgl. Hippursäurezersetzung § 191.

säure aus Leuzin natürlich nicht denkbar, immer wieder unter der Voraussetzung, daß kein Wasserstoff frei wird.

G l u t a m i n s ä u r e, die zweite Aminodikarbonsäure (mit fünf Kohlenstoffatomen), entwickelte in 15 Tagen 52,94% des Stickstoffs als Ammoniak. Unter den nur in geringer Menge gefundenen Säuren waren teils ätherlösliche kristallisierbare, die jedenfalls u. a. Bernsteinsäure enthielten, teils flüchtige mit Essigsäuregeruch. Daß hierbei Oxydationen durch den Luftsauerstoff eine Rolle spielten, wurde durch das hautartige Wachstum auf der Oberfläche nahegelegt.

Die **P y r r o l i d i n k a r b o n s ä u r e** (mit 5 Kohlenstoffatomen) gestattete ein ähnliches Wachstum. Es wurde dabei durch Sprengung des durch Stickstoff gebildeten Ringes Ammoniak frei (als Platindoppelsalz bestimmt), daneben Spuren anderer Basen, im ganzen in 11 Tagen 43,7 des Stickstoffs. Die beim Abdestillieren zurückbleibenden Massen hatten Spermageruch, wie in der theoretisch zu erwartenden Amino-valeriansäure. Da niedere kohlenstoffhaltige Abbauprodukte nur wenig gebildet zu werden scheinen, wird die der kräftigen zur Abspaltung des Ammoniaks nötigen Reduktionswirkung entsprechende Oxydation wohl zur völligen Verbrennung führen.

T a u r i n, die Aminoäthansulfosäure, die als Verwandte des **Z y s t i n s** untersucht wurde, gestattete wegen der bald eintretenden Säuerung nur ein reichliches Wachstum des Proteus, wenn Kreide zugesetzt wurde. Dabei wurde in 10 Tagen 11,3% des Stickstoffs in Form von Ammoniak abgegeben. Die übrigen Erzeugnisse wurden nicht untersucht (vgl. § 190).

Die Diaminosäuren wurden leider nicht geprüft (vgl. § 170).

Schließlich untersuchte **N a w i a s k y** noch das Verhalten des Proteus gegen **H a r n s t o f f** und **H a r n s ä u r e** (vgl. § 195 u. 193). 3 g Harnstoff wurden von 2 g Proteus in 2 Tagen zu 81% hydrolysiert, aus der Harnsäure aber wohl wegen ihrer sauren Reaktion in 6 Tagen nur 7,74% des Stickstoffs abgespalten.

Es wäre sehr erwünscht, wenn diese Untersuchungen auch mit anderen Bakterien wie mit dem Proteus angestellt und weiter auch nach der Seite der Enzymforschung hin vervollständigt würden.

Während der **S t a p h y l o c o c c u s p y o g e n e s a u r e u s** nach **L i b o r i u s**, **B i e n s t o c k**, **R e t t g e r** (§ 68) bei Sauerstoffabschluß und Fehlen von Kohlehydraten nicht zu wachsen vermag, oder mindestens nicht als Fäulniserreger bekannt ist, gibt **E m m e r l i n g**¹⁾ an, mit diesem Mikroorganismus bei Sauerstoffabschluß stinkende Fäulnis des Eieralbumins mit Bildung von Phenol, Indol,

1) Ber. chem. Ges. 1896. 2721.

Skatol erzeugt zu haben. Außerdem wurde Ammoniak in großer Menge, reichliche Mengen von Buttersäure, geringe von Ameisen-, Propion- und höheren Fettsäuren, viel Oxalsäure und wenig Bernsteinsäure, Trimethylamin, aber kein Betain (S. 510) gefunden. Auch Tissier und Martelly¹⁾ sahen durch den Staphyl. pyogenes, den sie allerdings aus Fäulnismischungen isoliert hatten, Zerfall des Fibrins unter Bildung übelriechender Produkte eintreten. Indol fanden sie aber nur in Spuren, Phenol überhaupt nicht. Lewandowski²⁾ u. a. vermißten auch Indol und überhaupt die faulige Zersetzung des Fibrins. Entweder haben diese Forscher verschiedene Bakterien in der Hand gehabt, oder, was wahrscheinlicher, der Verdacht, den Rettger ausspricht, trifft zu, d. h. man hat sich zum Teil durch Anaërobier, die die Kulturen verunreinigt hatten, täuschen lassen. Es fehlt demnach vorläufig eine unanfechtbare Arbeit über die Eiweißzersetzung durch die Eiterstaphylokokken. Neuerdings hat allerdings Riemer³⁾ die Zersetzung der Peptonbouillon durch sie studiert, aber wesentlich nur in bezug auf die Kohlensäurebildung (§ 220). Nur in zwei Parallelversuchen, die je 74 Tage dauerten, wurde auch die Ammoniakbildung, und zwar auf 22,9 bzw. 39,5% des Eiweißstickstoffs bestimmt. Die Kulturen waren dabei übrigens regelmäßig durchlüftet worden. Sind die Zahlen richtig, dann kann es kaum der Wirklichkeit entsprechen, wenn Riemer auf Grund seiner fortlaufenden Kohlensäurebestimmungen angibt, 42—47% der Albumosen seien dabei zu Kohlensäure verbrannt worden, sondern ein Teil des Gases muß aus anderen Quellen stammen.

§ 170. Eiweißspaltungen durch Vibrionen und andere Aërobier. Ptomaine. III. Wir kommen jetzt zu den mehr oder weniger streng aëroben und schon darum nicht eigentlich als Fäulnis-erreger zu betrachtenden, aber Eiweiß doch energisch angreifenden, zum mindesten es durch hydrolytische Enzyme verflüssigenden Mikroben. Zuerst wollen wir hier die Choleraspirlen und ihre Verwandten herausgreifen, weil sie den Proteusbakterien wenigstens durch ihr Vermögen, Indol zu bilden, nahestehen. Bekanntlich zeichnen sie sich gleichzeitig dadurch aus, daß sie Nitrate zu Nitriten reduzieren. So erklärt sich nach Brieger⁴⁾, Salkowski⁵⁾ und Petri⁶⁾ die gerade für diese Bakterien recht charakteristische, durch Zufügen

1) Annal. Pasteur 1902. 877.

2) Deutsch. med. Wochenschr. 1890. 51.

3) Arch. f. Hyg. 71, 1909.

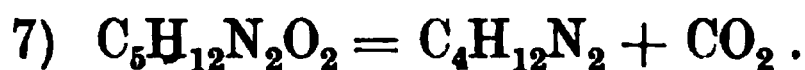
4) Deutsch. med. Wochenschr. 1887. 15 und 22.

5) Virchows Arch. 110, 1887.

6) Zentr. Bakt. 5, 1889.

von Mineralsäure zur Kultur zu erhaltende Nitrosoindol- oder Cholerarotreaktion (vgl. S. 539). Von sonstigen Zersetzungsprodukten sind namentlich studiert worden der Schwefelwasserstoff, dessen Bildung wir an anderer Stelle erörtern (§ 205), und die basischen Stoffe, die man mit Brieger als Ptomaine (vgl. § 259) bezeichnet hat. Nach diesem Forscher¹⁾ werden in Cholerakulturen gefunden: Putreszin, Methylguanidin, Cholin und namentlich Kadaverin.

Kunz²⁾ isolierte ferner aus einem Infus von Serumeiweiß und Ochsenpankreas, das mit Cholerabazillen geimpft war, eine Base von der Zusammensetzung C_2H_5N , die höchst wahrscheinlich mit dem Spermin identisch war. Wir werden bei Besprechung der Bakteriengifte auf diese und andere Ptomaine zurückkommen. Hier interessiert uns ihre Entstehungsweise aus dem Eiweiß, die wenigstens teilweise bekannt ist. Das Putreszin oder Tetramethyldiamin, das von Brieger³⁾ wie das Kadaverin auch aus Fäulnisgemischen erhalten wurde, bildet sich nach Ellinger⁴⁾ bei der Fäulnis aus Ornithin (Diaminovaleriansäure), einem hydrolytischen Spaltungsprodukt des im Eiweiß vorgebildeten Arginins $C_6H_{14}N_4O_2$ ⁵⁾, und zwar durch einfache Abspaltung von Kohlensäure (vgl. Formel 5 S. 513):



Ob gleichzeitig das Methylguanidin $C_2H_7N_3$ aus dem zweiten Spaltungsprodukt des Arginins, dem Guanidinrest, etwa durch Reduktion mit Wasserstoff hervorgeht, muß dahingestellt bleiben. Eine andere Möglichkeit, die Entstehung durch Oxydation aus dem Kreatin oder Kreatinin des Fleisches, ist experimentell bewiesen und bei dem Luftbedürfnis des Cholerabazillus auch nicht von vornherein abzulehnen.

Wie das Putreszin entsteht auch das Kadaverin oder Pentamethyldiamin nach Ellinger⁶⁾ durch Kohlensäurespaltung aus der Diaminokapronsäure.

Das Cholin ist schließlich ein Zerfallsprodukt des Lezithins (§ 189).

Wie die übrigen Basen, die bei Eiweißzersetzungen gefunden worden sind, sich bilden, ist unbekannt. Es ist aber wahrscheinlich,

1) Berl. klin. Wochenschr. 1887. 44.

2) Monatsh. Chem. 1888. 361.

3) Untersuchungen über Ptomaine 1885 und 1886.

4) Ber. chem. Ges. 1898. 318.

5) Das Arginin zerfällt, wie wir sahen, im Preßsaft der Hefe durch Hydrolyse in Ornithin und Harnstoff (§ 166).

6) Ber. chem. Ges. 1899. 3542.

daß auch das *Phenyläthylamin*¹⁾, das zuerst von *Nencki* und *Jeaneret*²⁾ bei der Fäulnis des Leims, das *Oxyphenyläthylamin*, das bei der Käsereifung (§ 178) gefunden worden ist, nach Art der Gleichung 7 aus den aromatischen Aminosäuren sich abspalten. Das *Methylamin* und *Äthylamin* aus Fäulnisgemischen bzw. Reinkulturen (s. *Ptomaine* § 259) würde vielleicht ebenso aus dem Glykokoll und Alanin entstehen. Manche andere Basen werden sich möglicherweise aus dem Cholin ableiten lassen.

Neuerdings hat *Nawiascky*³⁾ in der beim *Proteus* (§ 169) berichteten Weise auch die Eiweißzersetzung des *Vibrio Finkler-Prior* untersucht. Es zeigten sich in der ersten Wachstumsperiode (in Peptonbouillon) vermehrt die Aminosäuren, flüchtigen Basen⁴⁾ und Kreatin⁵⁾, vermindert die Albumosen, Peptone und der „Reststickstoff“, unverändert das Kreatinin. Beim weiteren Wachstum blieben ähnliche Verhältnisse bestehen, in der Absterbeperiode nimmt dagegen das Pepton und das Kreatin erheblich zu, während die Albumosen stark abnehmen. Fermente, die aus den Bakterienleibern austreten, werden daran schuld sein. Auffällig ist die dauernd geringe Bildung flüchtiger Basen, die im Gegensatz steht zu den sonstigen Funden *Nawiascky*s beim *Proteus* und bei zwei anderen streng aëroben Bakterien (*Bac. mesentericus* und *alcaligenes*), und übrigens auch zahlreicher anderer Forscher⁶⁾, und beweist, daß die tieferen Spaltungen der Aminosäuren, wenn sie überhaupt vorkommen, bei diesem *Vibrio* keinen bedeutenden Umfang haben, von einer Deckung des Betriebsstoffwechsels durch die Eiweißzersetzung also hier kaum die Rede sein kann, während umgekehrt die Ausnutzung der Eiweißstoffe zum Wachstum hier viel größer ist, als bei den übrigen Bakterien (vgl. § 234).

Weiter ist bemerkenswert die Bildung von Kreatin, die nicht nur während des Wachstums erfolgt, sondern auch beim Zellzerfall (enzymatisch?) weiter fortschreitet. Beim *Bac. alcaligenes* wird, um das hier gleich anzugeben, Kreatin nur im letzten Stadium gebildet, im ersten zersetzt, beim *Bac. mesentericus* nur

1) Vgl. *Spiro*, Hofmeisters Beitr. 1. 1901.

2) Journ. prakt. Chem. 15, 1877.

3) Arch. f. Hyg. 64, 1908.

4) Nur um 4 mg.

5) 28 gegen 15 mg.

6) *Z. B. Marchal* und *Stoklasa* § 171. *Berghaus* (Arch. f. Hyg. 64 s. o. beim *Proteus* S. 515) hat übrigens auch beim *Choleraspirillum* keine erheblichere Ammoniakbildung beobachtet, ebensowenig beim *Typhusbazillus* (vgl. aber *Stoklasa*).

während des Wachstums gebildet. Kreatinin, dessen Menge beim *Vibrio* unverändert bleibt, nimmt beim *Alcaligenes* (durch Wasserentziehung aus dem Kreatin?) während des Wachstums zu, bei dessen Zerfall (durch Wasseraufnahme und Umbildung in Kreatin?) wieder ab; beim *Bac. mesentericus* nimmt es gleichzeitig mit dem Kreatin während des Wachstums zu. Ob man bei den immerhin kleinen Mengen auf diese Analysen entscheidenden Wert legen darf, steht freilich dahin. Sonst ist über die Bildung der Fleischbasen wenig bekannt (s. o. *Proteus* S. 514). Neuerdings hat aber Antonoff¹⁾ wie schon früher Zinn die Weylsche Reaktion benutzt, um die Bildung von Kreatinin bei Bakterien zu studieren. Nach ihm erzeugen diesen Stoff aus Pepton die Vibrionen, Hühnercholerabazillen, *Proteus*, *Bac. coli*, *pseudodysenteriae*, auch Diphtheriebazillen, Staphylo- und Streptokokken, nicht Typhus-, Paratyphus-, Dysenteriebazillen usw. Manche der letzteren geben eine positive Reaktion bei Traubenzuckerzusatz; vielleicht hat also die Säureentwicklung einen gewissen Einfluß.

§ 171. Fortsetzung. Ammoniakbildung durch Aërobier. IV. Energische Zersetzungen des Eiweißes, bei denen gewöhnlich weder übelriechende Produkte noch Indol gebildet werden, erzeugt eine ganze Reihe verflüssigender Bakterien, die wie die Spirillen strenge Aërobier sind. Als Vertreter der großen Gruppe der Heubazillen sei zuerst ein aus Milch isoliertes Bakterium erwähnt, das von Kalischer²⁾ auf Milch und Kaseinlösung studiert worden ist. Durch Enzymwirkung allein (S. 489) entstehen aus dem Kasein Pepton, Leuzin, Tyrosin, Tryptophan, eine aromatische Oxysäure und etwas Ammoniak. Dieselben Stoffe werden in den lebenden Kulturen nachgewiesen, Ammoniak aber in sehr viel reichlicherer Menge. Offenbar findet eine Spaltung der Aminosäuren durch die Bakterien statt. Dafür spricht auch das Vorhandensein flüchtiger Fettsäuren, vor allem der Baldriansäure (s. o. S. 508). Asparaginsäure und Glutaminsäure, Skatol, Phenol und Kresol wurden nicht gefunden, dagegen bei der Prüfung auf Hexonbasen eine kristallisierbare Substanz, die nicht näher bestimmt werden konnte.

Andere Milchbazillen aus der Gruppe der Heubakterien waren schon früher mehrfach als Eiweißzersetzer erkannt worden, so der *Bac. (pseudo-)butyricus*, der nach Hüppe³⁾ Pepton, Leuzin, Tyrosin und Ammoniak und außerdem Buttersäure, die er aber auf die Vergärung von Milchsäure zurückführte, entwickelt. Löffler,

1) Zentr. Bakt. 43. 209, 1907.

2) Zentr. Bakt. 37, 1900.

3) Mitteilungen d. Gesundheitsamts 2, 1884, vgl. § 113.

H ü p p e , F l ü g g e ¹⁾ u. a. studierten dann die diesen Bazillen sehr nahestehenden Bakterien der „bitteren Milch“, ohne aber auf die feinere Zusammensetzung ihrer Erzeugnisse mit Ausnahme der nach ihrer Ansicht den bitteren Geschmack erzeugenden Peptone (s. u.) näher einzugehen. L e w a n d o w s k i ²⁾ fand bei dem *Bac. subtilis* zwar weder Indol noch Phenol, beide Substanzen aber bei dem nahe verwandten *Kartoffelbazillus*. Daß die Scheidung zwischen Bakterien, die Indol bilden, und solchen, die es nicht tun, eine etwas künstliche ist, zeigen noch mehr die Untersuchungen von K ö n i g , S p i e c k e r m a n n und O l i g ³⁾ (vgl. S. 567). Heubazillen zersetzen einen vegetabilischen Nährboden, der aber reich ist an Eiweiß, das Baumwollensaatmehl, zunächst ohne Indol zu bilden: es fanden sich nach fünfwöchentlicher Kultur nur K o h l e n s ä u r e , A m m o n i a k , S c h w e f e l w a s s e r s t o f f und M e r k a p t a n , primäre und sekundäre A m i n b a s e n , B u t t e r s ä u r e , P h e n y l p r o p i o n - und P h e n y l e s s i g s ä u r e , a r o m a t i s c h e O x y s ä u r e n e b e n A l b u m o s e n und P e p t o n e n . Nach 3 Monaten waren aber auch noch B a l d r i a n s ä u r e , P h e n o l , K r e s o l , S k a t o l k a r b o n s ä u r e (Indolessigsäure), S k a t o l und I n d o l nachzuweisen. Die Zersetzung reiner Proteinstoffe verlief in ähnlicher Weise: bei 3—4wöchentlicher Fäulnis traten Skatol und Phenol nicht auf, Indol nur bei Eiweiß und Blutfibrin, nicht bei Pflanzenkonglutin. Am stärksten war das Eiweiß zersetzt: es verschwanden 26,5% der Trockensubstanz und 41% des Stickstoffes, und zwar 20% als Ammoniak. Da die austretenden Gase in Schwefelsäure aufgefangen wurden, hätte man diesen Verlust nicht haben dürfen, wenn es sich bloß um Ammoniakverdunstung gehandelt hätte. Also muß nach der Ansicht der Verfasser freier S t i c k s t o f f entbunden worden sein, ein Schluß, der der üblichen Annahme, wonach nur die Nitrate und unter dem Einfluß von salpetriger Säure die Amide solchen liefern, widerspricht (vgl. § 179).

Die eiweißzersetzende Fähigkeit der Heubazillengruppe (*Tyrothrix Duclaux*) spielt auch anscheinend eine große Rolle bei der Käsereifung (§ 178). Chemisch genauer untersucht sind namentlich die Leistungen des *Bac. nobilis* durch O. J e n s e n ⁴⁾. Sie bestehen darin, viel P e p t o n , A m m o n i a k , von flüchtigen Säuren B a l d r i a n - und B u t t e r s ä u r e , also dieselben, die wir schon bei der Anaërobenfäulnis vorkommen sahen, zu bilden. Ähnliches darf man sagen von einem zweiten für die Käsereifung wichtigen Bakterium, dem M i c r .

1) Zeitschr. Hyg. 17. 293, 1894.

2) Deutsch. med. Wochenschr. 1890. 51.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 535, 1903.

4) Journ. Landwirtsch. Schweiz 1904.

casei liquefaciens. Kleine Mengen von Ameisen- und Essigsäure erzeugte es nebenbei. Nach Adametz und Chrzaszcz¹⁾ wäre ferner für den *Bac. nobilis* ein alkaloid-ähnlicher Körper, der genau beschrieben wird, charakteristisch. Eine als *Thyrothrix* bezeichnete Bazillenart, die nach Epstein²⁾ die Reifung des Camembertkäses bewirken soll, ist ein aërobes Bakterium, das wahrscheinlich den folgenden Arten näher steht. Es erzeugt in Kaseinlösung Albumosen, Peptone, Tyrosin, Leuzin, aromatische Oxysäure, Essig-, Butter- und Valeriansäure, Ammoniak, aber kein Tryptophan, Indol, Skatol, Phenol und Kresol. Der Bitterstoff, der in Käsen, ebenso wie in Milch nicht selten auftritt, soll nach neuen Untersuchungen von Trillat und Sauton nicht Pepton sein, sondern eine harz-ähnliche Substanz, deren Bildung auf gleichzeitigem Auftreten von Aldehyden und Ammoniak beruht (§ 173 u. 178).

Auch die grünfluoreszierenden Bazillen, die eine ähnliche Verbreitung wie die Heubakterien und der *Proteus vulgaris* haben, namentlich aber im Wasser regelmäßig vorkommen, gehören hierher. Emmerling und Reiser³⁾ haben allerdings nur die Wirkung des *Bac. fluorescens liquefaciens* auf die Gelatine studiert. Das Hauptprodukt ist Ammoniak, in dem mehr als 25% des Stickstoffs erscheinen. Daneben treten Methylamin, Trimethylamin, Cholin und Betain auf. Aminosäuren, aus denen jedenfalls das Ammoniak stammt, wurden nicht dargestellt, wohl Pepton. Daß Indol und Skatol und Schwefelwasserstoff sich nicht fanden, ist nicht wunderbar, da Tryptophan und die Zystein-Gruppe überhaupt dem Leim fehlen. Aber auch die Abkömmlinge des Tyrosins, die Phenole, wurden vermißt. Über das tryptische Enzym, das Emmerling und Reiser aus den Leibern derselben Bazillen gewannen, wurde schon S. 489 gesprochen.

Eine Ergänzung zu dieser Untersuchung über den *Bac. fluorescens liquefaciens* bildet die Arbeit von Arnaud und Charrin⁴⁾ über die Zersetzung, die der naheverwandte *Bac. pyocyaneus* in einer 5% Asparaginlösung verursacht. Danach wird fast der gesamte Stickstoff dieses Amids der Aminobernsteinsäure, nämlich 91% in die Form von Ammoniakverbindungen übergeführt, und zwar teils unmittelbar, teils auf dem Wege über die Asparaginsäure. Auch aus der Gelatine wird durch den *Pyocyaneus* 70% des Stickstoffs als

1) Kochs Jahresber. 1905. 323.

2) Arch. f. Hyg. 43, 1902.

3) Ber. chem. Ges. 1902. 700.

4) Compt. rend. ac. sc. 112. 755 u. 1157, 1891 vgl. § 234.

Ammoniak abgespalten. Wir haben also wahrscheinlich ähnliche Verhältnisse, wie wir sie oben vom *Proteus* berichtet haben (§ 169). *Arnaud* und *Charrin* fanden auch schon die enzymatische Natur der Asparaginsäurebildung. Allerdings gelingt die Zerlegung des Asparagins nicht durch Kulturfiltrate, wohl aber durch die Bazillenkörper, wenn Chloroform zugesetzt wird. Neben dieser „Asparaginase“, die nur hydrolytisch wirkt, gibt es nach dem Funde *Nawiasky* (§ 169) eine „Aminazidase“, die die Asparaginsäure weiter spaltet. Leider fehlen entsprechende Untersuchungen über die Zersetzungen anderer Aminosäuren durch den *Bac. pyocyaneus*.

Nur teilweise wird diese Lücke ausgefüllt durch die Arbeiten von *Marchal*¹⁾ und *Stoklasa*. Zunächst untersuchte der erstgenannte Forscher, wieviel Ammoniak die von ihm aus Erde gezüchteten verschiedenartigsten Mikroorganismen aus einer Eiweißlösung entwickelten, die 10% durch Zusatz von 0,01% Ferrisulfat ungerinnbar gemachtes Eieralbumin und darin 1,5% Stickstoff enthielten. Alle waren dazu imstande, wenn sie sich überhaupt auf diesem Nährboden entwickelten. Die Bestimmung ergab nach Destillation mit Magnesia die folgende Reihe:

Es verwandelten binnen 20 Tagen bei 30° von dem Eiweißstickstoff in Ammoniakstickstoff:

<i>Bac. mycoides</i>	46%	<i>Bac. arborescens</i>	19%
<i>Proteus vulgaris</i>	36%	<i>Bac. fluorescens liquefaciens</i>	16%
<i>Bac. mesentericus vulgatus</i> .	36%	<i>Cephalothecium roseum</i> .	37%
<i>Sarcina lutea</i>	27%	<i>Aspergillus terricola</i> . . .	32%
<i>Bac. subtilis</i>	23%	<i>Botryotrichum piluliferum</i>	24%
<i>Bac. janthinus</i>	23%	<i>Stemphylium</i>	5%
<i>Bac. fluorescens putidus</i> .	22%	<i>Streptothrix Foersteri</i> (?)	21%

Von den hier aufgeführten Bakterien und Schimmelpilzen, die, abgesehen von *Proteus* und *Fluorescens putidus*, nur strenge Aërobier umfassen, erwies sich also *Bac. mycoides* als kräftigster Eiweißzersetzer. Unter 8 Stämmen dieses Bazillus fand *Marchal* einen, der sogar 58% des Eiweißstickstoffs in Ammoniak überführte²⁾. Weiterhin ergab sich das interessante Resultat, daß die Eiweißspaltung um so weiter

1) Bull. acad. roy. sc. bell. lett. Bruxelles 3. sér. 25, 1893, S. 727.

2) Auch der *Bac. megatherium* führt den Eiweißstickstoff (aus der Abfallauge der Melasseentzuckerung) bis zu 62% in flüchtige Basen über (*Andrlik* ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 219, s. auch u. bei *Stoklasa*).

ging, je verdünnter die Lösung war. In 1prozentiger Lösung erreichte sie 100%. Sämtliche Eiweißkörper wurden in ähnlicher Weise angegriffen, am stärksten sogenanntes „Pepton“. Von den Aminosäuren entwickelte Tyrosin in 0,4prozentiger Lösung mit etwas Zucker und Salzen 66% seines Stickstoffs in Form von Ammoniak, Leuzin 40% und Asparaginsäure in 1prozentiger Lösung 37%¹⁾. Der Kreatinstickstoff ging nur zu ca. 9% in Ammoniak über. Marchal faßt diese Zersetzung der Eiweißstoffe durch den *Bac. mycoides* als eine Oxydation auf. Doch gibt er selbst an, daß sie nicht vollständig ist, da er auf jedes Milligramm Ammoniak nur 8,9 mg Kohlensäure sich entwickeln sah, während von der Theorie 10,35 verlangt werden, und außerdem flüchtige Fettsäuren wie Ameisen-, Propion- und Buttersäure nachgewiesen wurden. Uns scheint die Voraussetzung näher zu liegen, daß auch hier zunächst ähnliche Spaltungen stattfinden wie bei den Anaëroben — Peptone, Leuzin und Tyrosin fehlten ebenfalls nicht —, daß dann aber die Spaltungsprodukte weiter durch den Sauerstoff der Luft oxydiert werden. Die Säuren (Oxalsäure? s. u.), die dabei sich bilden, und die Verdunstung des Ammoniaks, die dabei möglich ist, erklären es wahrscheinlich, daß die Eiweißzersetzung gerade bei den Aëroben gewöhnlich viel umfangreicher ist als bei den Anaëroben²⁾, bei denen die Anhäufung des Ammoniaks den Spaltungsprozeß früher hemmt. In einem ähnlichen Versuch mit 1prozentiger Peptonlösung erhielt übrigens Löhnis³⁾ nach 10 Tagen von verschiedenen Bakterien 4—20% Ammoniak, von *Bac. mycoides* nur 10—12%.

Ein anderes Verfahren, um den Grad der Eiweißzersetzung durch verschiedene Bakterien festzustellen, befolgte Stoklasa⁴⁾ in einer Arbeit, die wir hier anschließen wollen, obwohl sie außer verflüssigenden strengen Aërobiern auch fakultativ anaërobe, verflüssigende und

1) Auch Glykokoll wird durch manche Bakterien und Pilze kräftig gespalten, vgl. Hippursäure § 191. Die Assimilationsversuche von Bierema (Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 710, 1909) lehrten nichts über Zersetzungen des Leuzins, Tyrosins und der Asparaginsäure, zeigten aber, daß sie ohne Abscheidung von Ammoniak und Stickstoff-(Ammoniak-) Verlust assimiliert werden.

2) Wie gering die Kohlensäurebildung bei der gemischten anaëroben Fäulnis ist, sieht man aus den Angaben von Berthelot und André (§ 179). Daß nur die Aërobiose dabei entscheidet, folgt aus den ähnlichen Erfahrungen von Arnaud und Charrin (s. u. S. 545).

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 14. 399. 1905.

4) Hofmeisters Beitr. 3. 1903.

nichtverflüssigende Arten betrifft. Nach dem Vorgange Hausmanns¹⁾ bestimmte er zuerst den „Amidstickstoff“, dann den „Diamino-“ und schließlich dem „Monaminostickstoff“, der aus einem eiweißhaltigen, gut durchlüfteten²⁾ Nährboden — in diesem Falle Knochenmehl³⁾ 10 g + 0,1 g Kaliumsulfat + 0,05 g Magnesiumchlorid + 0,01 g Eisensulfat auf 900 Teile Wasser — während 33 Tagen bei 32° erhalten wurde, und verglich ihn mit der Bindungsform des Stickstoffs in dem ungeimpften Nährboden.

Von der Nährlösung wurden 250—500 ccm klar abfiltriert, auf ca. 100 ccm eingedampft (unter Auffangen des überdestillierten Ammoniaks), dann nach dem Abkühlen mit 20 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt und unter beständigem Ersatz des verdampften Wassers 5 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Jetzt wurde die Flüssigkeit mit Magnesia überneutralisiert und das Ammoniak abdestilliert, — der N im Ammoniak ergibt den (lose gebundenen) Amidstickstoff. Der Rückstand, in Salzsäure gelöst, wurde eingengt, mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Fällung nach 24 Stunden abfiltriert und mit stark verdünnter, salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr gelb gefärbt ablief — die Stickstoffbestimmung ergab den Diaminosäurenstickstoff. Das Filtrat wurde auf 250 ccm eingedampft und sein Stickstoff wurde (nach Kjeldahl) bestimmt: Monoaminosäurenstickstoff. Schließlich stellt man auch noch den Gesamtstickstoff in einem anderen abgemessenen Teil der Nährlösung fest und berechnet die Verhältniszahlen.

Das Ergebnis war folgendes (abgekürzt):

Die Kultur ergab den Stickstoff in Form von					
	Amld-N	Dia- mino-N	Monoa- mino-N	Von der Phosphor- säure des Knochen- mehls gingen in Lösung	Absolute Menge des in Lösung ³⁾ befindlichen Stickstoffs
B. megatherium	61%	20%	14%	22%	0,48 g
„ proteus vulgaris	44%	30%	29%	15%	0,47 g
„ pseudobutyricus (Hüppe) .	46%	14%	36%	16%	0,48 g
„ mycoides	62%	9%	25%	23%	0,49 g
„ mesentericus vulgatus . .	63%	41%	?	21%	0,49 g
„ subtilis	62%	18%	12%	23%	0,46 g
„ coli communis	53%	21%	20%	21%	0,44 g
„ typhi	67%	10%	18%	23%	0,46 g

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 27 und 29.
2) Dabei wurde die zutretende Luft von Ammoniak befreit und das Ammoniak in der austretenden Luft in Schwefelsäure aufgefangen, um keinen Verlust zu bekommen.
3) Das Knochenmehl hatte einen Stickstoffgehalt von 5,3%, es war also in dem ganzen Nährboden 0,53 g N vorhanden.

Die Kultur ergab den Stickstoff in Form von					
	Amid-N	Dia- mino-N	Monoa- mino-N	Von der Phosphor- säure des Knochen- mehls gingen in Lösung	Absolute Menge des in Lösung befindlichen Stickstoffs
B. fluorescens liquefaciens . .	23%	57%	15%	?	0,47 g
„ pyocyaneus	22%	55%	17%	12%	0,43 g
„ Hartlebii	20%	66%	11%	6%	0,46 g
„ Stutzeri	14%	57%	26%	8%	0,35 g
„ filifaciens	11%	63%	18%	4%	0,32 g
ungeimpft	4%	29%	62%	4%	0,37 g

Leider wurde der von den Bakterien fertiggebildete Ammoniakstickstoff nicht getrennt bestimmt, er ist in den Zahlen der ersten Spalte mit einbegriffen. Die Methode ergibt ferner, wie man sieht, meist einen nicht unerheblichen Verlust. Man weiß auch nicht, in welcher Form der Stickstoff in dem unlöslichen Teil des Nährbodens enthalten war. Immerhin sind die Unterschiede so bedeutend, daß sie im großen und ganzen kaum auf Fehler zurückgeführt werden können. Es zeigt sich gegenüber den geimpften Proben eine starke Abnahme des Monoaminostickstoffs, und zwar bei den ersten 8 Arten — den „Ammonisationsbakterien“ zugunsten des Amidstickstoffs, bei den letzten 5 — den Denitrifikationsbakterien — zugunsten des Diaminostickstoffs. Die erstere Tatsache würde ja ohne weiteres verständlich sein, wenn man sich die Zersetzung der ursprünglich in Knochenleim vorhandenen Monoaminosäuren in der gewöhnlichen Weise vor sich gehend denkt; das reichliche Auftreten des Diaminostickstoffs in den Kulturen der zweiten Gruppe setzt aber U m w a n d l u n g e n e i g e n t ü m l i c h e r A r t v o r a u s, die noch aufgeklärt werden müßten. Die Zahlen, die in der Tabelle für die in Lösung gegangene Phosphorsäure des Knochenmehls angegeben sind, sprechen dafür, daß das Kalziumphosphat durch die Bakterien der ersten Gruppe energisch angegriffen wird. Auch hier täte eine Aufklärung not. Wir wollen schon hier vorwegnehmen, daß die Bakterien der zweiten Gruppe den Namen der Denitrifikationsbakterien mit Recht führen, weil sie, wie wir später sehen werden (§ 198), die salpetersauren Salze sehr lebhaft zersetzen. S t o k l a s a stellte in besonderen Versuchen fest, daß sie im Gegensatz zu den Bakterien der ersten Gruppe, in Nährlösungen, die neben Eiweiß (Leim) oder Asparagin noch Nitrate enthalten, die komplizierten Stickstoffverbindungen ziemlich unberührt lassen, um so reichlicher aber das salpetersaure Salz angreifen.

Hierher gehören schließlich auch einige Untersuchungen *Berg-haus'* und *Nawias'kys*, die sich mit der Eiweißzersetzung durch *Proteus* (S. 514), *Vibrio Finkler* (S. 523), *Bac. alcaligenes* und *Bac. mesentericus* befaßten. Der letztere unterschied sich wenig von dem *Alcaligenes*, indem er den Stickstoff der Albumosen und Peptone zu mehr als einem Drittel in Basenstickstoff verwandelte.

§ 172. Eiweißspaltung durch Schimmelpilze und Strahlenpilze. V. Den aëroben Bakterien treten die Schimmelpilze, die meist proteolytische Enzyme bilden (S. 491), an die Seite. Über die Erfahrungen *Marchals*, die Schimmelpilze des Bodens betreffend, haben wir schon S. 527, berichtet. Die einzelnen Pilzarten unterscheiden sich auch nach *Teichert*¹⁾ in ihrem Vermögen, das Eiweiß anzugreifen, recht erheblich. *Penicillium glaucum* macht aus den Proteinstoffen der Milch 77,8% löslich und bildet dabei 69,7% „Amidsubstanzen“. Die entsprechenden Zahlen für *Mucor mucedo* lauten 48,5 bzw. 33,6%, für *Oidium lactis* 9,1 bzw. 2,4%. Über die Bedeutung dieser und anderer Pilze für die Käsereifung und das Käsearoma werden wir an anderer Stelle handeln (§ 178). Besonders *Butkewitsch*²⁾ hat aber bei den einzelnen Arten interessante Unterschiede in ihrem Verhalten zu den Eiweißkörpern aufgefunden. Der *Aspergillus niger* verwandelt den größten Teil derselben in Ammoniak und Oxalsäure, den kleineren Teil in Aminosäuren wie Leuzin und Tyrosin und andere nicht bekannte Stoffe. *Penicillium glaucum* und *Mucor*arten bilden umgekehrt verhältnismäßig wenig Ammoniak und Oxalsäure, aber viel Aminosäuren. An diesem Verhältnis ist die saure Reaktion, die durch die Anhäufung der Oxalsäure in den Kulturen des *Aspergillus niger* entsteht, schuld. Sorgt man z. B. durch Bindung der Oxalsäure mit kohlensaurem Kalk für ihre Entfernung aus der Nährlösung, so bleibt auch beim *Aspergillus* die Zersetzung der Eiweißstoffe im wesentlichen bei den Aminosäuren stehen, offenbar weil der Ammoniak, der aus der Spaltung hervorgeht, die Reaktion des Nährbodens bald so alkalisch macht, daß dadurch die weitere Tätigkeit des Pilzes behindert wird. Umgekehrt kann man *Penicillium* und *Mucor* durch Aufrechterhalten der sauren Reaktion in der Kultur mittelst Zufügung von Phosphorsäure dazu bringen, daß sie das Eiweiß auch zum größten Teil zum Ammoniak spalten. Oxalsäure selbst wird, wie wir S. 390 ff. gesehen haben, wohl von allen Pilzen gleichmäßig gebildet, aber von dem *Aspergillus* nicht weiter angegriffen, während es von den anderen Arten verbraucht wird. Daß das Ammoniak durch

1) Milchzeitung 1903.

2) Jahrb. wiss. Bot. 38, 1903.

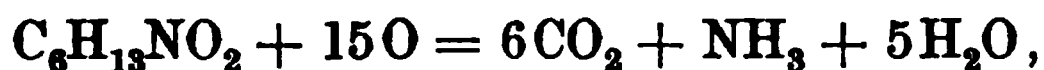
Spaltung der Aminosäuren entsteht, hat Butkewitsch durch Züchtung des *Aspergillus* auf Leuzin, Tyrosin und Asparagin nachgewiesen. Im Widerspruch damit hat freilich Emmerring¹⁾ auf Leuzin überhaupt kein Wachstum des *Aspergillus niger* beobachtet, ein schwaches nur auf Phenylalanin, Arginin, Histidin, Lysin. Die übrigen Aminosäuren (Glykoll, Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Pyrrolidinkarbonsäure, Serin) ermöglichen ein üppiges Wachstum. Oxalsäure wurde dabei stets als Stoffwechselprodukt gefunden, auf andere nicht gefahndet. Leider hat Butkewitsch ebensowenig wie Emmerring die Frage weiter untersucht, ob diese Spaltung auf enzymatischem Wege erfolgt, und welche andere Stoffe dabei entstehen. Fehlen die Zwischenprodukte des Zerfalls, die wir bei den übrigen Mikroorganismen, auch strengen Aërobiern, bisher niemals vermißt haben, vor allem die niederen Fettsäuren und der Schwefelwasserstoff, ferner die aromatischen Abkömmlinge des Tyrosins, Phenylalanins und Tryptophans auch bei den Schimmelpilzen nicht? Oder werden etwa nur Kohlensäure, Oxalsäure und Schwefelsäure neben dem Ammoniak gefunden? Im letzteren Fall würden wir die Eiweißzersetzung durch die Schimmelpilze als einen reinen Oxydationsprozeß, eine echte „Verwesung“ (§ 176) anzusehen haben. Die Frage ist deswegen von ganz besonderer Bedeutung, weil gerade Schimmelpilze das Eiweiß so vollständig zerlegen können, wie wenige andere Mikroorganismen. Erscheinen doch bis zu 60% der Eiweißstickstoffe in den Kulturen des *Aspergillus niger* als Ammoniak²⁾. Wir nähern uns damit den Verhältnissen des Eiweiß-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 274, 1903.

2) Sehr viel geringer scheint nach Butjagin (Arch. f. Hyg. 52. 1, 1904) die Zersetzung des gekochten, nicht vom Fett befreiten Muskelfleisches durch *Penicillium glaucum* und besonders *Aspergillus niger* zu sein. Leider gibt der Verfasser außer der Menge der gasförmig ausgeschiedenen Kohlensäure und des Ammoniaks nur die prozentische Zusammensetzung des Fleisches vor und nach der 115 Tage dauernden Schimmelpilzentwicklung an. Der Ammoniakstickstoff betrug am Schluß wohl kaum mehr als den 8. Teil des ursprünglich vorhandenen Gesamtstickstoffs. Der Stickstoff der Aminosäuren machte nur eben den 8. Teil der Trockensubstanz aus. Die Menge der flüchtigen Säuren und wasserlöslichen Bestandteile war vermehrt, der Ätherextrakt vermindert. Sind, wie im Brot, Korn und in den pflanzlichen Futtermitteln neben dem Eiweiß reichliche Mengen von Kohlehydraten oder Fetten vorhanden, so ist die Zersetzung des Eiweißes noch geringfügiger (Welte, Arch. f. Hyg. 24; Hebebrand, Hyg. Rundschau 1892; Scherpe, Arbeit. Gesundheitsamt. 15, vgl. auch § 180 ff.).

zerfällt im Organismus der höheren Tiere, der ja ein noch vollständigerer ist, wenn auch das Ammoniak nicht als solches, sondern als Harnstoff ausgeschieden wird.

Bis zu dem Beweis des Gegenteils werden wir keine so scharfe Abgrenzung der Schimmelpilze von den übrigen Mikroorganismen vornehmen dürfen und auch ihnen Spaltungs- und Reduktionsprozesse zuschreiben müssen, denen die Oxydationen erst nachfolgen würden. So würde z. B. das Leuzin durch sie nicht unmittelbar oxydiert werden zu Kohlensäure, Wasser und Ammoniak, etwa nach der Formel



sondern zunächst z. B. in Baldriansäure, Buttersäure, Ammoniak und Kohlensäure gespalten (S. 518) und dann mehr oder weniger vollständig weiter verbrannt werden. Andeutungen dafür, daß durch Schimmelpilze (*Penicillium glaucum*) auch aromatische (Karbolsäure) und ptomainartige Stoffe gebildet werden, finden wir übrigens in der Literatur¹⁾.

Einige parasitische Schimmelpilze vermögen auch schwer angreifbare Eiweißkörper oder Abkömmlinge davon, wie *K e r a t i n*, zu zerlegen, und ebenso stickstoffhaltigen Körpern, die den Kohlehydraten wohl näher stehen, wie *C h i t i n* und Huminstoffen, ihren Stickstoff zu entziehen (S. 112). Wie sie das machen, ist aber noch nicht untersucht.

Den Schimmelpilzen scheinen die *S t r a h l e n p i l z e* in ihrem Stoffwechsel nahe zu stehen (s. o. *M a r c h a l*). *Streptothrix* (Aktin.) *chromogena* bildet aus aromatischen Eiweißresten (Tyrosin) Farbstoffe (S. 486). Nach *B e i j e r i n c k*²⁾ spielt als Sauerstoffüberträger das reichlich erzeugte *C h i n o n* eine Rolle (vgl. S. 466). Auch Indol wird gebildet (s. u. S. 538).

§ 173. Eiweißspaltung durch Hefe. Bildung von Alkoholen und Aldehyden, Geruchs- und Geschmacksstoffen. VI. Den Schimmelpilzen reihen sich die Hefepilze an und bilden gleichzeitig durch ihr geringes Verflüssigungsvermögen einen Übergang zu der folgenden Gruppe (§ 174). Über das Eiweißzersetzungsvermögen der Hefe ist wenig bekannt. Daß sie auch Ammoniak aus Eiweißstoffen abzuscheiden vermögen, wird zwar durch die Erfahrungen, die bei der Selbstverdauung der Hefe gemacht worden sind (§ 166), bewiesen, aber seine Menge ist nicht wesentlich größer, als man auch bei der Trypsinverdauung erhält, man ist daher vielleicht zunächst noch berechtigt,

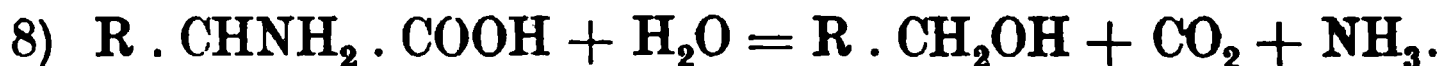
1) *G o s i o*, Baumgartens Jahresber. 1896. 525; *I w a n o f f* ebenda 1898. 635.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 2, 1900.

sämtlichen von der Hefe entwickelten Ammoniak als „Amidstickstoff“ zu betrachten, d. h. aus der Wirkung eines hydrolytischen Enzyms auf gewisse leicht spaltbare Bestandteile des Eiweißes (Säureamide) zu erklären. Versuche mit Asparagin müßten darüber Auskunft geben, ob Hefe wirklich imstande ist, sie zu Asparaginsäure zu spalten. Die Tatsache, daß Asparagin zur Ernährung der Hefe besonders geeignet ist, spricht wohl dafür. In ebensolchen Versuchen würde sich dann weiter ergeben, ob die Spaltung noch darüber hinausgeht und z. B. zur Bildung von Bernsteinsäure u. a. führt. Bisher liegen nur derartige Prüfungen vor für einige andere Aminosäuren, namentlich das Leuzin. F. Ehrlich¹⁾ hat dabei die Entdeckung gemacht, daß die lebende Hefe allerdings nur bei Gegenwart von viel Zucker, d. h. wenn sie Gelegenheit zur Gärung erhält, aus dem Leuzin Amylalkohol zu bilden vermag. Man könnte sich die Umsetzung am einfachsten erklären durch die Gleichung:



Bei der reichlichen Erzeugung von Kohlensäure durch die alkoholische Gärung des Zuckers ist die neben dem Amylalkohol entstehende Kohlensäure kaum nachzuweisen. Merkwürdigerweise wird aber auch der Ammoniak vermißt. Ehrlich macht deshalb die Annahme, die Hefe verbrauche das abgespaltene Ammoniak zu ihrer Ernährung, die Spaltung die äußerlich einer Gärung entspricht, diene also vermutlich der Assimilation. Dazu paßt, daß ein Zusatz von Ammoniaksalz oder Asparagin zu der Zucker-Leuzinmischung das Leuzin vor der Spaltung in Amylalkohol usw. schützt²⁾. In ganz ähnlicher Weise entstehen vielleicht die anderen höheren Alkohole, die das „Fuselöl“ ausmachen (§ 90) aus anderen Aminosäuren, z. B. der Isobutylalkohol aus der Aminovaleriansäure. Folgende allgemeine Formel würde den Vorgang wiedergeben:



Wirklich nachgewiesen hat Ehrlich bisher noch, daß aus dem Tyrosin (Oxyphenylanin) durch die Hefegärung Oxyphenyl-Äthylalkohol, aus dem Phenylalanin Phenyläthylalkohol (der Riechstoff der Rose!), aus der Phenylaminoessigsäure Benzyl-

1) Zeitschr. d. Vereins für Rübenzuckerind. 1905. 8; Ber. chem. Ges. 1906 u. 1907.

2) Aus dem hauptsächlich im Eiweiß vorhandenen Linksleuzin entsteht Iso-Amylalkohol, aus dem wahrscheinlich auch vorhandenen Isoleuzin normaler Amylalkohol. Das Rechtsleuzin wird kaum angegriffen, weshalb durch Hefe inaktives Leuzin unter Freiwerden von Rechtsleuzin (vgl. § 58) gespalten wird.

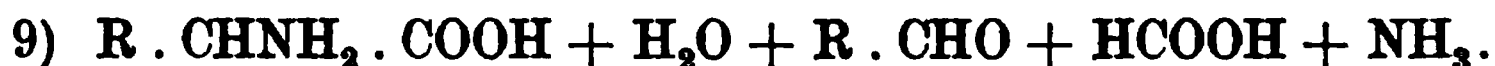
alkohol (und Benzaldehyd) entwickelt werden. Wenn auch vorausgesetzt werden kann, daß alle diese Vorgänge enzymatischer Natur sind, so gelang es doch Ehrlich nicht, sie durch Azetondauerhefe hervorzurufen. Pringsheim¹⁾ bestätigte auch für andere Pilze, wie *Mucor racemosus*, *Rhizopus tonkinensis*, *Monilia candida*, eine Torulaart usw. die Fähigkeit, Leuzin in Amylalkohol umzuwandeln, doch ist sie geringer entwickelt als in der Hefe, bei der nach Ehrlich bis zu 3% entstehen können. Auch nach Pringsheim ist die „desamidierende“ Kraft der Hefe und Pilze gegenüber Aminosäuren, ebenso wie die weitere Spaltung des Restes in Alkohol und Kohlensäure an ein Ferment gebunden, das sich bisher aber in den Preßsäften nicht darstellen läßt, die Auffassung Ehrlichs aber nicht berechtigt, daß die Ernährung der Pilze mit Aminosäuren immer nur auf dem Umwege der Ammoniakabspaltung geschähe. — Während Pringsheim der Meinung ist, daß Bakterien höchstens aus Zucker und auch nur in geringer Menge Amylalkohol bilden könnten (S. 372), hat Nawiascky in seiner Arbeit über den *Proteus* (S. 518 ff.) bewiesen, daß dieses gemeine Fäulnisbakterium ebenfalls aus Leuzin große Mengen Amylalkohol, aus Amino-valeriansäure Butylalkohol und aus Phenylalanin wahrscheinlich Benzil und Benzaldehyd entwickelt. Aber schon eine ältere Angabe über Amylalkoholbildung aus Eiweiß liegt bei Maassen²⁾ vor. In seiner gründlichen Arbeit über den *Bac. praepollens* stellte er fest, daß dieser alle Eiweißstoffe energisch verflüssigende Keim, der wohl in unsere vierte Gruppe (§ 171) gehört, neben Leuzin und Tyrosin viel Kohlensäure, ferner Propion-, Valerian-, Bernsteinsäure, Spuren von Ameisensäure, aromatische Oxysäure und eine unbekannte Säure erzeuge. Schwefelwasserstoff und Merkaptan werden nur aus Pepton, nicht aus anderem Eiweiß erhalten. Das Aroma schien durch valeriansauren Amyläthergebildet zu sein. Daneben entsteht noch ein flüchtiger, jodoformbildender Körper, während Indol, Skatol und Phenol fehlen. Andere von Maassen untersuchte Aromabildner sind dem *Bac. praepollens* teils ähnlich, teils gehören sie zu der folgenden nichtverflüssigenden Gruppe (§ 174).

Unter den Erzeugnissen der Hefegärung (§ 90), wie gelegentlich unter denen der Fäulnis und Eiweißzersetzung, z. B. bei dem eben

1) Biochem. Zeitschr. 8 und 12, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 156; 22, 119.

2) Arb. k. Gesundheitsamts 15. 500, 1901.

genannten *Bac. praepollens*, werden *Aldehyde* und *Ameisensäure* neebneinander erwähnt. Die oben erwähnten Mitteilungen *Ehrlich*s und *Nawiasky*s beweisen, daß *Aldehyde* auch bei der Zersetzung der Aminosäuren neben *Alkoholen* entstehen. *Ehrlich*¹⁾ hat darauf hingewiesen, daß, wenn man den entsprechenden *Aldehyd* an die Stelle des *Alkohols* und *Ameisensäure* an die der *Kohlensäure* setzt, die oben angegebene Formel geeignet sei, die Bildung beider Stoffe zu erklären:

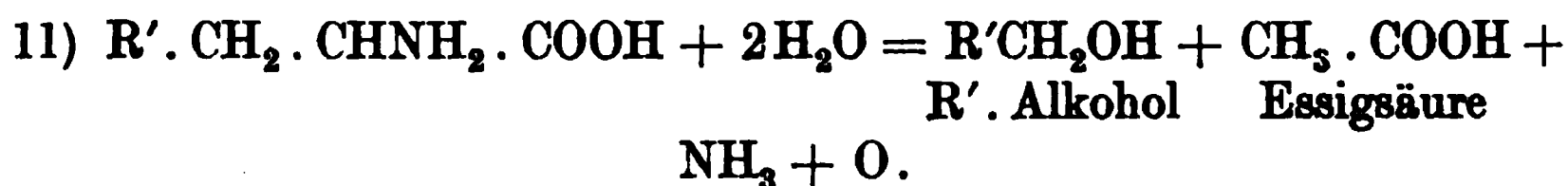


Ob die *Aldehyde*, die nach *Trillat* und *Sauton*²⁾ von *Milchsäurehefen* und anderen *Mikroben* erzeugt werden, auf Kosten von *Zucker* oder von *Eiweißstoffen* oder das einmal so, das anderemal so entstehen, ist zweifelhaft. Sie haben dadurch eine Bedeutung, daß sie mit dem von demselben oder anderen Keimen gebildeten *Ammoniak* zusammen eine *harzähnliche* Substanz mit bitterem Geschmack ergeben. Die Verfasser führen darauf den *Geschmack der bitteren Milch* und des *bitteren Käses* zurück (§ 171 u. 178).

Wir wollen übrigens hier bemerken, daß auch noch andere Zersetzungen der Aminosäuren und entsprechenden *Fettsäuren* denkbar wären, die zur Bildung von *Alkoholen* führen. Es ist nämlich:



und



Wir haben damit Umsetzungen, bei denen, wie bei unserer Gleichung 1 auf S. 505, *Sauerstoff* frei wird. Beide könnten sich also vielleicht ersetzen. Ebenso erhielten wir an Stelle von Formel 2a und 2b auf S. 506 folgende einfachere:



In der Tat haben wir Veranlassung, bei der von *Nawiasky* studierten Fäulnis des *Leuzins* durch *Proteus* (S. 518) dergleichen anzunehmen.

Läßt man die in den Formeln 8 und 9 festgelegten Umsetzungen als Leistungen der Hefe zu, so ist es vielleicht erlaubt, mit *Ehr-*

1) Zitiert von *Nawiasky* a. a. O. Der Ort ist falsch zitiert und hat von uns nicht festgestellt werden können. Vgl. aber Anm. 1 auf folgender Seite.

2) Annal. Pasteur 1908. 3.

lich¹⁾ auch die Bernsteinsäure der alkoholischen Hefegärung (§ 90) aus einer Aminosäure, d. h. der Asparaginsäure nach Formel 1, herzuleiten. Natürlich müßten daneben Oxydationsprodukte (vgl. S. 516) entstehen. Beweise für diese Annahme scheinen noch nicht vorzuliegen. Selbst an eine Bildung der bei der Zymasegärung gefundenen (§ 90) Milchsäure aus dem Alanin nach Formel 4 auf S. 509 ließe sich denken.

Daß durch diese Bildungsart der Aldehyde wie der Alkohole die zur Entstehung der Geschmacks- und Geruchsstoffe führenden Vorgänge erschöpft wären, ist freilich kaum anzunehmen. Auch aus dem Zucker bzw. Kohlehydraten und Glykosiden können ja, wie wir bei der Milch- und Buttersäuregärung sahen, mindestens Alkohole, vielleicht auch Aldehyde und Ketone entstehen. In sehr vielen Fällen ist die Herkunft des Aromas noch nicht aufgeklärt (s. Butterherstellung § 111, Käserreifung § 178), oder muß zum Teil auf in den Nährböden vorgebildete Stoffe wie Glykoside zurückgeführt werden (s. S. 261 u. 454 ff.).

§ 174. Eiweißspaltung durch nicht peptonisierende Bakterien. VII. Den bisher besprochenen vier Gruppen von Bakterien (§ 168—171), die das Eiweiß unter Mitwirkung proteolytischer Enzyme zerlegen, stehen die übrigen gegenüber, die nicht mit solchen ausgerüstet sind und dennoch die Eiweißstoffe ihrer Ernährung dienstbar machen, es also auch ohne Ausnahme mehr oder weniger tief spalten müssen, wenn sie davon leben sollen. Man könnte sie als „peptolytische“ von den „proteolytischen“ unterscheiden (Tissier und Martelly²⁾). Doch stimmt der Name deswegen nicht, weil nicht bloß die Peptone und Albumosen, sondern auch lösliche und sogar feste Eiweißstoffe von ihnen, wenn auch in abnehmender Stärke, angegriffen werden. Wie das geschieht, ist im allgemeinen noch dunkel. Die Möglichkeit, daß bei der Peptonspaltung Enzyme, wie das Erepsin der Darmschleimhaut mitwirken, ist im Auge zu behalten (S. 493). Daneben wird man aber vor allem an die Beteiligung von Endotryptasen, die ja zum Teil bei ihnen nachgewiesen sind (§ 166), denken. Eine wissenschaftliche Einteilung der nicht verflüssigenden Mikroorganismen zu geben, sind wir vorläufig nicht imstande. Ganz verkehrt wäre es z. B., den ungleichen Sauerstoffbedarf dazu zu benutzen. Allerdings gibt es auch unter ihnen strenge Anaërobier, wie gelegentliche und strenge Aërobier, aber die Art der tieferen Spaltung scheint durch diese Eigenschaft ebensowenig gekennzeichnet zu sein, wie bei den peptonisierenden Mikroben. Für den praktischen Gebrauch hat folgende Trennung ein gewisses Interesse.

1) Ref. Chemiker-Zeitung 1907. 1086.

2) Annal. Pasteur 1902. 12.

Nach den Spaltungsprodukten der „aromatischen“ Eiweißkerne könnte man die „nichtverflüssigenden“ Mikroorganismen mit *Kitasato*¹⁾ und *Lewandowski*²⁾ einteilen in solche, die

a) Indol (oder Skatol) und Phenol bilden, d. h. Tryptophan und Tyrosin zerlegen — hierher gehören z. B. die Bakterien der hämorrhagischen Septikämie und des Rotzes;

b) Indol, aber kein Phenol bilden — der *Bac. coli communis* und Verwandte, ferner der Tuberkelbazillus³⁾ und Aktinomycesarten⁴⁾;

c) weder Indol noch Phenol bilden, z. B. der Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbazillus, der *Bac. aërogenes*, die Streptokokken, der *Micrococcus tetragenus* usw.

Die Bedeutung dieser Einteilung für die Diagnostik ist allerdings, wenn wir von den bei den anderen Bakterien gemachten Erfahrungen (s. o. § 168—171) ganz absehen, durch spätere Untersuchungen zweifelhaft geworden. Widersprechende Angaben über den *B. coli communis* (*Blumenthal*⁵⁾, *Tissier* und *Martelly*⁶⁾, *Lehmann* und *Neumann*⁷⁾) lassen sich freilich noch erklären durch den Umstand, daß unter diesem Namen mehrfach Bakterien identifiziert worden sind, die voneinander verschieden sind. Es gibt ja viele Unterarten des *B. coli* (z. B. *B. coli anindolicus*). Unzweideutig lehren dagegen die Versuche von *Morris*⁸⁾, daß scharf gekennzeichnete Bakterien, wie der *Bac. typhi*, *murisepticus*, *cyanogenes* und von verflüssigenden der *Bac. violaceus*, *pyocyaneus*, *anthracis*, die man früher als Nicht-indolbildner ausgegeben hat, mehr oder weniger starke Indolreaktion liefern, wenn man sie nicht wie gewöhnlich einige Tage in 1 prozentiger, sondern 10 Tage in 5 prozentiger Peptonbouillon züchtet. Auch unter diesen Umständen bilden nach *Morris* kein Indol der *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus tetragenus*, *Bac. phosphorescens*, *diphtheriae*, *Zopfii*, *enteritidis*, *rhusiopathiae suis*; und von verflüssigenden der *Staphyl. pyog. aureus* und *albus*, der „*Bac. subtilis*“ und *megatherium*. Es fragt sich nur, ob diese Bestimmungen denn nun endgültige sind. Schon S. 525 haben wir gesehen, daß je nach der Wahl des Eiweißkörpers, der durch Heubazillen zersetzt wird, die aromatischen Zerfalls-

1) Zeitschr. f. Hyg. 7, 1889.

2) Deutsch. med. Wochenschr. 1890. 51.

3) *Kühne*, Zeitschr. f. Biol. 29 und 30. 238.

4) *Lehmann* und *Neumann*, Grundriß d. Bakteriologie 1904. Über Strahlenpilze vgl. das S. 533 Gesagte.

5) Zeitschr. f. klin. Med. 28. 241, 1895 (Indol und Phenol).

6) a. a. O. (ebenso).

7) a. a. O. (Spuren Phenol).

8) Arch. f. Hyg. 30, 1897.

produkte verschieden sind. Noch schlimmer ist es, daß die Indolbildung bei einem und demselben Bakterium in den gleichen Nährböden veränderlich ist. Versuche, die im Laboratorium des Verfassers von S e l t e r ¹⁾ mit dem Bazillus der Pseudodysenterie gemacht worden sind, beweisen das: von einer Reihe von 10 Bouillonpeptonröhrchen, die gleichzeitig mit einem und demselben Stamm dieses Bazillus geimpft wurden, gaben nach 14 Tagen die einen die Reaktion, die anderen nicht oder schlecht. Liegt das an einer eigentümlichen Fehlerquelle in der kolorimetrischen Methode des Indolnachweises oder wirklich an der Variabilität der Bazillen? Es wäre interessant genug, dieser Frage weiter nachzugehen.

Wenn man somit der Indolprobe auch nicht jede Bedeutung namentlich für die Bakteriendiagnostik absprechen wird, so beweisen diese und frühere Erfahrungen doch, daß nicht nur ihre H a n d - h a b u n g gewisse V o r s i c h t s m a ß r e g e l n erfordert, sondern auch, daß die Verarbeitung des Tryptophankerns zu Indol viel häufiger den Mikroorganismen gelingt, als man früher geglaubt hat.

Bis wir in der Lage sind, das reine Tryptophan (Aminoindolpropionsäure) als Reagens auf Mikroorganismen zu verwenden, müssen wir uns mit der bisherigen Methode des Indolnachweises in eiweißhaltigen Nährböden begnügen. Am besten geeignet ist nach unseren Erfahrungen eine 10prozentige Peptonsalzlösung oder im Notfall eine 5—10prozentige Peptonbouillon. Benutzt man die gewöhnliche 1prozentige Peptonbouillon, so ist auch ein kleiner Z u c k e r g e h a l t vom Übel, weil er die Reaktion meist verhindert (§ 186). Letztere wird so angestellt, daß man zu etwa 10 ccm der wenigstens 8tägigen Kultur je 1 ccm einer 0,02prozentigen Lösung von salpetrigsaurem Natrium und reiner Schwefel-, Salpeter- oder Salzsäure gibt (S a l k o w s k i S. 521). Die rote Fällung geht beim Schütteln in reichliche Mengen von Amylalkohol über. Dadurch ist das „Nitrosoindol“ von anderen roten Farbstoffen, die gelegentlich beim Zusatz obiger Reagentien auftreten, zu unterscheiden (Milzbrand nach M a a ß e n). Die L e g a l s c h e Probe (Nitroprussidnatriumlösung bis zur Gelbfärbung und einige Tropfen Natronlauge) gibt mit Indol eine blauviolette Färbung, die auf Zusatz von Salzsäure reinblau wird. Am sichersten ist die Gewinnung des Indols, Skatols und Phenols durch Destillation.

Über die neue und anscheinend recht brauchbare E h r l i c h s c h e Indolprobe vgl. B ö h m e ²⁾, M a r s h a l l ³⁾ und C r o s s o n i n i ⁴⁾.

1) Zentr. Bakt. 51, 1909. Über das ungleiche Verhalten der verschiedenen Abarten der Pseudodysenteriebazillen vgl. auch K r u s e , R i t t e r s - h a u s , K e m p und M e t z , Zeitschr. Hyg. 57. 430, 1907.

2) Zentr. Bakt. 40. 129. Zu 10 ccm der Kultur werden je 5 ccm einer Lösung von Paradimethylamidobenzaldehyd (4 in 380 Alkohol von 96% und 80 konz. Salzsäure) und Kaliumpersulfat (konz. wässrig) zugesetzt.

3) Journ. of hyg. 1907. 581.

4) Arch. Hyg. 72, 1910.

Eine notwendige Voraussetzung für die Bildung von Indol scheint die Abspaltung des Tryptophans aus den Eiweißkörpern zu sein. Eine Untersuchung von Erdmann und Winternitz¹⁾ hat ergeben, daß fast alle Bakterien dazu befähigt sind. Sie weisen das Tryptophan (oder „Proteinochrom“, wie sie es nach dem Vorgang von Stadelmann nennen) nach, indem sie die Kulturen in 5prozentiger Peptonbouillon mit Essigsäure schwach ansäuern und unter Umschütteln tropfenweise mit gesättigtem, frisch zubereitetem Chlorwasser (besser als Bromwasser) versetzen. Die ersten Tropfen bringen gewöhnlich schon eine deutliche Rotfärbung hervor. Nur bei starken Indolbildnern wie *Bac. coli*, *pneumoniae* (?), *acidi lactici* (aërogenes?), *suisepitici* fehlte die Reaktion stets, während schon am ersten Tage Indol nachgewiesen wurde. Man könnte das damit erklären, daß von diesen Bakterien das aus dem Eiweiß abgespaltene Tryptophan sofort weiter umgewandelt würde. Allerdings spräche dagegen, daß einzelne Bakterien (die Spirillen der Cholera usw.) erst die Indol-, dann die Tryptophanreaktion geben. Vielleicht liegt das aber an der geringen Empfindlichkeit der letzteren. — Bei einer Nachprüfung im Laboratorium des Verfassers erhielt Selter nur negative Ergebnisse.

Genauere Untersuchungen über die Eiweißzersetzung durch nicht verflüssigende Mikroorganismen liegen bisher nur wenige vor, und auch diese wenigen widersprechen sich.

Taylor²⁾ hat die Eiweißzersetzung durch *Bac. coli* untersucht, aber nur sein Verhalten zu Kasein festgestellt. Die Spaltung dieses Stoffes soll keine tiefgreifende sein. Freilich wird der organisch gebundene Phosphor zu $\frac{3}{4}$ als Phosphorsäure abgespalten, ferner Spuren von Diaminosäuren (Histidin), aber anscheinend keine Monoaminosäuren gebildet, und es bleibt viel koagulierbares Eiweiß zurück.

Viel energischere Wirkungen fand dagegen zunächst Rettger³⁾ bei anaërober Züchtung des *B. coli* auf Pepton, Eieralbumin und namentlich in einer Aufschwemmung von Fleisch und Eieralbumin. Nach 2—3 Wochen war die Flüssigkeit faulig zersetzt und enthielt neben sehr wenig Albumose und Pepton viel Leuzin, Tyrosin, Indol, Skatol, karbonsäure, Phenolen, Schwefelwasserstoff und Merkaptan, während Kadaverin und Putreszin fehlten. Die Fäulnis schritt dann weiter, die meisten Zwischenprodukte wurden zu Kohlensäure, Sumpfgas, Ammoniak zersetzt, Indol, Leuzin und Tyrosin blieben unberührt. Der *Bac. aërogenes* brauchte viel längere Zeit, um ähnliche Zersetzungen zu bewirken.

Mit diesen Angaben stimmen aber nicht überein die Erfahrungen Biensocks, die mit zahlreichen Anaërobiern am Fibrin gemacht

1) Münchn. med. Wochenschr. 1903. 23.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 36, 1902.

3) Americ. Journ. of physiol. 8. 284, 1903.

worden sind (S. 507), und P f a u n d l e r s¹⁾, die dahin gehen, daß der Colibazillus reine Proteine wie Serumeiweiß und Eiweißsalzlösungen überhaupt nicht anzugreifen vermöge, sondern nur weiter abgebaute Eiweißstoffe. So bilde er z. B. bei der Zersetzung des Wittepeptons 6% Ammoniak (aus Leim aber nach Stoklasa [s. o. S. 529] ebenso wie der Typhusbazillus 9—11 mal soviel Amidstickstoff). Spätere Untersuchungen führten dann auch R e t t g e r (S. 507) zu dem Ergebnis, daß die FleischeiERMischung in wirklichen Reinkulturen des Bac. coli, aërogenes und vieler anderer daraufhin geprüfter verflüssigender und nichtverflüssigender Aërobier, z. B. des B. faecalis alcaligenes, fluorescens, Streptococcus pyogenes, ohne „sichtbare Zeichen der Zersetzung“ blieb, und daß seine eigenen früheren Befunde wie die E m m e r l i n g s (s. u.) sich durch nachträgliches Überwuchern von Anaëroben erklärten. Erst in Mischkulturen von letzteren (besonders des Putrificus) und Colibazillen traten erhebliche Mengen Indol, kleine von Skatol und Skatolkarbonsäure auf. Im übrigen scheinen aber die Coli- und Aërogenesbazillen die Eiweißspaltung durch die Anaëroben zu verlangsamen, was man wohl auf Säurebildung aus den Zuckern des Nährbodens erklären darf (§ 186).

S c h i t t e n h e l m und S c h r ö t e r²⁾ zeigten, daß der B. coli aus nukleinsaurem Natrium durch ein erepsinähnliches Enzym (s. o. S. 494), Phosphorsäure, Ammoniak und Purinbasen abspaltet und letztere weiter zersetzt. Das Guanin zerfällt dabei unter Wasseraufnahme in Xanthin, das Adenin in Hypoxanthin und Ammoniak (§ 193). Soweit würde man mit der Annahme hydrolytischer Enzyme auskommen. Außerdem finden sich noch Stoffe, die auf tiefere Abspaltungen deuten, aber nicht, wie S c h i t t e n h e l m und S c h r ö t e r ursprünglich annahmen, freier Stickstoff (O p p e n h e i m e r³⁾)).

Nach E m m e r l i n g⁴⁾ wäre auch die Wirkung des Streptococcus pyogenes auf Fibrin eine sehr kräftige. Er soll es bei Luftabschluß allmählich zu einer nichtstinkenden Flüssigkeit lösen, die durch Kochen nicht gerinnt, durch Alkohol getrübt wird, Biuretreaktion gibt und aus der sich Pepton, Leuzin, Tyrosin, Ammoniak, Methylamin, Propylpyridin (Kollidin), Bernsteinsäure, Buttersäure und andere flüchtige Fettsäuren, aber kein Phenol und Indol darstellen lassen.

1) Zentr. Bakt. 31. 113, 1902.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 1903.

3) Ebenda 41.

4) Ber. chem. Ges. 18. 97. 1863.

Diese Ergebnisse widersprechen aber denen **Bienstocks**¹⁾ und **Rettgers** (s. o.). Sie konnten überhaupt keine Zersetzung des Fibrins oder Fleisches und Eiweißes durch Streptokokken feststellen. Möglich wäre es, von Verunreinigungen abgesehen, daß Unterschiede zwischen den einzelnen Arten und Varietäten von Streptokokken beständen. Hat man doch auch verflüssigende Stämme beobachtet. Der **Streptococcus lacticus**, sowie namentlich die **langen Milchsäurebazillen**, d. h. die gewöhnlichen Milchsäurebakterien (§ 97), greifen ferner mindestens das **peptonisierte Kasein** an und tragen dadurch zur Käse- reifung bei (§ 178). Auch für den Geschmack und Geruch der Butter sollen ihre aromatischen Produkte, deren Entstehung freilich noch dunkel ist, von Bedeutung sein (§ 111). Unter den fruchtätherbildenden Bakterien gibt es nach **Maassen** (s. o. S. 535) auch einige nicht verflüssigende. **Ammoniakderivate** sind gelegentlich aus Kulturen dieser Gruppe dargestellt worden, wie wir bei Besprechung der Gifte (§ 259) noch sehen werden.

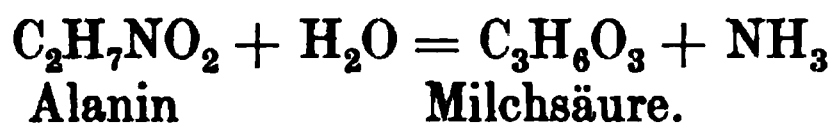
Daß alle Bakterien, die sich von Eiweiß nähren, es auch angreifen, ist selbstverständlich. Von den Zersetzungsprodukten kennen wir aber, abgesehen von den früher erwähnten Fällen, nur das **Ammoniak**. Daß es regelmäßig gebildet wird, können wir schon aus der bekannten Laboratoriumserfahrung folgern, daß stets in (zuckerfreien) Kulturen eine ausgesprochen alkalische Reaktion eintritt und daß selbst in zuckerhaltigen die ursprünglich saure Reaktion sich früher oder später in die alkalische zu verwandeln pflegt, wenn die Säuerung nicht zu stark ist²⁾. Die Erfahrungen **Pfaunders**, **Stoklasas** und **Berghaus**' (S. 515) an Coli- und Typhusbazillen wurden schon erwähnt.

Im Laboratorium des Verfassers stellte **Hölling** auch reichliches Ammoniak fest in Kulturen von Ruhr- und Typhusbazillen. Neuerdings haben dann **Berghaus** und **Nawiasky** (S. 514) nicht nur beim **Proteus** und anderen verflüssigenden Bakterien, sondern auch bei dem streng aëroben, aber nicht verflüssigenden **Bac. alcaligenes** den Abbau der Albumosen, Peptone und Aminosäuren zu Ammoniak bzw. anderen flüchtigen Basen festgestellt. Im ganzen wurde von dem ursprünglichen Stickstoff der Nährlösung weit mehr als ein Drittel in dieser Weise umgewandelt. Daß dabei enzymatische Vorgänge beteiligt sind, ist kaum zu bezweifeln.

1) Arch. f. Hyg. 36. 389.

2) Vgl. **Kruse**, **Rittershaus**, **Metz** und **Kemp** über Dysenterie- und Pseudodysenterie, Zeitschr. f. Hyg. 57, 422, 1907.

Die bei der Zersetzung des Peptons durch *B. coli* gebildeten Fettsäuren scheinen nur von *Blumenthal*¹⁾ näher studiert worden zu sein. Er fand außer Valerian- und Kapronsäure (s. o. Leuzinzer-
setzung S. 518) namentlich noch *Bernsteinsäure*, deren Bildung aus Milcheiweiß, Asparagin- und Glutaminsäure durch *Proteus* wir schon S. 516 ff. kennen gelernt haben. Ausnahmsweise wird von nicht verflüssigenden Bakterien, und zwar von manchen echten Milchsäurebakterien nach *Kayser* und *Rodella* (S. 298) auch *Milchsäure* aus Eiweiß und Fibrin erzeugt. Eben dahin gehört die Erzeugung von Milchsäure durch den fäulniserregenden Buttersäurebazillus *Grabberger* und *Schattenfroh* (S. 508). Vielleicht geht die Bildung nach der einfachen Formel 4 auf S. 509 vor sich:



§ 175. Zusammenfassendes über die Eiweißspaltungen. Überschauen wir den zurückgelegten Weg, so sehen wir zwar ein recht mannigfaltiges Bild, finden aber doch auch in zahlreichen Zügen genug Übereinstimmungen. Soviel ist sicher, daß sich scharfe Grenzen nirgends ziehen lassen, daß vor allem die sogenannte „Fäulnis“, wie wir in der Einleitung dieses Abschnittes (§ 167) sagten, mit den übrigen Arten der Eiweißzer-
setzung allenthalben durch Übergänge verbunden ist. Die eigentliche Zersetzung des Eiweißmoleküls scheint eben stets im wesentlichen die gleiche zu sein, insofern die durch Hydrolyse aus dem Eiweiß hervorgegangenen Aminosäuren nach den in unseren Formeln 1—11 niedergelegten Möglichkeiten und vielleicht noch nach einigen anderen ähnlich gebildeten zerfallen. Wahrscheinlich beruhen die bisher beobachteten Unterschiede, wenn wir von den nur die Vorbereitung des Zerfalls betreffenden Verschiedenheiten absehen, die durch das Vorhandensein oder Fehlen proteolytischer (hydrolytischer) Enzyme bedingt werden, darauf, daß bald diese, bald jene Zersetzung mehr hervor-, manche vielleicht ganz zurücktritt. Die vielfach voneinander abweichenden Angaben in der Literatur, namentlich über die Indol- und Phenolbildung, lassen es aber als möglich erscheinen, daß die Fähigkeiten der einzelnen Arten nur gradweise voneinander verschieden sind. Natürlich könnte man daran denken, daß auch die einzelnen Aminosäuren in ungleicher Art und Stärke von den verschiedenen Mikroben angegriffen würden. Leider fehlt uns darüber bisher aber jede Möglichkeit zu urteilen, weil die Zersetzungen der Aminosäuren durch Reinkulturen nur von wenigen Forschern (*Arnaud* und *Charrin*, *Marchal*, *Butkewitsch*,

1) S. o. S. 538 und *Virchows Arch.* 137.

Emmerling, F. Ehrlich, Pringsheim, Nawiasky) und zwar auch noch nicht in genügender Weise studiert worden sind. Aus demselben Grunde können wir natürlich nicht angeben, welche unserer Formeln dabei nun in jedem Falle in Frage kommt. Es folgt daraus, daß das Studium der tieferen Eiweißspaltung durch Mikroben erst in den Anfängen steckt, der Zukunft also das entscheidende Wort in fast allen hier in Betracht kommenden Fragen überlassen bleiben muß. Das gilt auch für die Frage nach der enzymatischen Natur der Spaltungen, nach dem allgemeinen Vorkommen von „Aminazidasen“, und ganz besonders auch für die Feststellung der Energieverhältnisse (vgl. § 223, 231 u. 237).

Selbst darüber sind wir noch durchaus nicht in allen Fällen unterrichtet, wie weit der freie Sauerstoff der Luft bei den in diesem Abschnitt beschriebenen Zersetzungen eine Rolle spielt. Im wesentlichen wird es sich ja freilich nach unseren Ausführungen auf S. 533 um die Beteiligung des Sauerstoffs bei den weiteren Veränderungen der Eiweißspaltungsprodukte handeln. Im nächsten Abschnitte, wo wir über die Verwesung sprechen, werden wir die wenigen bisher über die Verbrennung der Eiweißstoffe vorliegenden Erfahrungen mitteilen.

§ 176. Oxydation von Eiweißstoffen. Verwesung. Mit *Verwesung* bezeichnete Liebig¹⁾ eine langsame Verbrennung der organischen Stoffe durch den Sauerstoff der Luft. Wir wissen jetzt, daß Veränderungen der organischen Stoffe allein durch den Luft-sauerstoff, d. h. ohne Beteiligung von Enzymen oder lebenden Mikroorganismen, in meßbaren Zeiträumen nur äußerst gering sind²⁾. Aber auch wenn wir die letzteren in die Definition mit aufnehmen, wird sie noch keine brauchbare, sobald wir sie auf die eiweißartigen Stoffe anwenden. Wir haben zwar gesehen, daß Kohlenhydrate, Alkohole, organische Säuren, und wir werden bald davon sprechen, daß Ammoniak- und salpetrige Säure solchen reinen Oxydationsprozessen verfallen können, bei den Eiweißstoffen kennen wir derartige Vorgänge aber bisher nicht. Anscheinend müssen diese bei der Zersetzung immer erst Wandlungen durchmachen, die vom Sauerstoffzutritt unabhängig sind, und die wir teils auf einfache hydrolytische Spaltungen teils auf Spaltungsgärungen enzymatischer Natur zurückgeführt haben³⁾. Selbst

1) Organische Chemie 1846, S. 379.

2) Bei P a s t e u r, Etudes sur la bière, finden sich solche Versuche, weitere Erfahrungen sind gemacht worden beim Studium der Selbstreinigung und Nitrifikation im Boden und Wasser (vgl. § 183 ff.). Erwähnt wurde schon die langsame Oxydation der Humusstoffe S. 118.

3) Auch bei der vollständigen Oxydation der Kohlehydrate sind übrigens nach der Ansicht mancher Forscher derartige anaërobe Spaltungen Vorbedingungen der Oxydation (§ 123).

die Aërobier, deren Leben ohne freien Sauerstoff auf die Dauer unmöglich ist, wie Schimmelpilze, Hefe, Heubakterien, vollziehen wahrscheinlich die Spaltung der Eiweißkörper zu Aminosäuren und der Aminosäuren zu Ammoniak und stickstofffreien Substanzen ohne unmittelbare Beteiligung des Luftsauerstoffs. Erst bei den weiteren Veränderungen und anscheinend auch für die Bildung ihrer enzymatischen Kräfte kommt die letztere in Frage. Wir haben deswegen diese Mikroorganismen, die man am ehesten noch als Erreger der Verwesung bezeichnen kann, schon im vorigen Abschnitt besprechen müssen.

In welchem Umfange die Sauerstoffwirkung besteht, wissen wir leider nur aus wenigen Arbeiten. Wenn wir von denjenigen Marchals (S. 527) und Riemers (S. 521) absehen, in denen nicht die Sauerstoffaufnahme, sondern nur die Kohlensäureabgabe bestimmt, also nicht mit voller Sicherheit die Ausdehnung der Beteiligung des freien Sauerstoffs festgestellt wurde, so bleiben eigentlich nur die Versuche von Arnaud und Charriin mit *Pyozyaneus* übrig (S. 526). Aus ihnen folgt, daß dies Bakterium in Asparaginlösung etwa das Fünffache seines Eigengewichts (d. h. der endgültigen Ernte) an Luftsauerstoff verbraucht und dabei 72,5% des ursprünglich im Nährboden enthaltenen oder 84% des nicht in den Bakterien festgelegten Kohlenstoffs zu Kohlensäure, den Rest zu nicht näher bestimmten Verbindungen verbrennt. Wir kommen am anderen Orte (§ 220 u. 234) auf diese Zahlen zurück. Die Ergebnisse Hesses, die an einem gemischten Nährboden gewonnen wurden, und diejenigen von Schittenhelm und Schröter betreffend den Atemquotienten von Colibazillen, die auf nukleinsaurem Natron mit und ohne Glyzerin, Asparagin und Milchsäure gezüchtet waren, erwähnen wir eben daselbst. Alle diese Versuche sind noch sehr der Nachprüfung bedürftig. Vor allem wäre es nötig, mehr als bisher auf die bei der Oxydation gebildeten Zwischenzeugnisse zu achten. Die Schwierigkeiten sind freilich groß. Von vornherein ist es nämlich klar, daß durch die freie Oxydation nicht nur die in ihrem Ursprung leicht erkennbare Oxalsäure (s. o. S. 531), sondern auch alle anderen Fettsäuren und Oxyfettsäuren von der Baldriansäure bis zur Ameisen- und Kohlensäure gebildet werden könnten¹⁾, alles Stoffe, die auch durch „intramolekulare Oxydation“, d. h. anaërobe Spaltungen, entstehen. Man wird also im einzelnen Falle über ihren Ursprung im Zweifel bleiben können.

1) S. über die „Säureverzehrung“ auch § 149.

Das nach unserer Auffassung ebenfalls anaërob entstehende Ammoniak wird im allgemeinen durch die Oxydation nicht weiter verändert. Immerhin liegen einige Angaben über die Bildung freien Stickstoffs (s. o. S. 525 und § 179) und selbst über die ohne Beteiligung der echten „Nitrifikationsbakterien“ (§ 196) vor sich gehende Bildung von salpetriger und Salpetersäure vor. So besteht *Dunbar*¹⁾ auf Grund seiner beim Studium der Abwasserreinigung im Boden und in den „biologischen“ Filtern gemachten Erfahrungen darauf, daß es *Bakterien* gibt, die den organischen Stickstoff sogar unter Vermeidung der Reduktion zu Ammoniak, d. h. also unmittelbar zu Salpetersäure oxydieren. Nach *Heinze*²⁾ wären auch die gewöhnlichen Schimmelpilze, z. B. *Aspergillus niger*, zu ähnlichen Leistungen imstande. In welchem Umfange das freilich geschieht, ob solche Wirkungen praktisch neben der Tätigkeit der Nitrobakterien in Betracht kommen, ist eine andere Frage.

Der organische Schwefel wird zugegebenermaßen bei der Verwesung und zwar vollständig zu Schwefelsäure verbrannt, ebenso wohl der Phosphor zu Phosphorsäure.

Es unterliegt, wie wir schon mehrfach hervorgehoben, keinem Zweifel, daß die Verwesung in dem bezeichneten Sinne aufgefaßt einen bedeutend größeren Anteil an der vollständigen Zerstörung des Eiweißes hat als die Fäulnis. Wir sprechen davon noch mehr bei der gemischten oder „natürlichen“ Fäulnis und Verwesung (§ 179 ff.).

Die enzymatische Natur der bei der Verwesung wirkenden Kräfte ist zwar wahrscheinlich, aber bisher, wenn wir von einigen später zu berichtenden Erfahrungen (§ 222) absehen, noch nicht sicher genug bewiesen.

Jedenfalls können wir uns heutzutage mit der einfachen chemischen Erklärung, die *Hoppe-Seyler*³⁾ für die kräftige Wirkung des atmosphärischen Sauerstoffs bei der Eiweißzersetzung gegeben hat, nicht mehr begnügen. Nach ihm wird das Sauerstoffmolekül durch den bei der Fäulnis entwickelten Wasserstoff in *statu nascendi* in seine Atome gespalten und diese sollen die Oxydation bewirken. Dieser Hypothese widerspricht schon das fast regelmäßige Fehlen von Wasserstoff bei der Eiweißzersetzung und das Ausbleiben der Oxydation bei der reinen Anaërobierfäulnis, bei der am ehesten noch Wasserstoff aus Eiweißstoffen selbst oder wenigstens aus beigemischten Kohlehydraten entsteht.

1) Leitfaden für die Abwasserreinigungsfrage, 1907, S. 219.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 14. 18, 1905.

3) Physiol. Chem. S. 127 und 983 (1877—81).

Neben den enzymatischen Wirkungen im engeren Sinne scheinen übrigens auch andere katalytische Einflüsse bei der Verwesung eine Rolle zu spielen. Bei Besprechung der Erfahrungen, die beim Studium der Selbstreinigung im Boden und in Filtern gemacht worden sind, werden wir sehen, daß die Flächenwirkungen dieser porösen Materialien und außerdem ihre chemische Zusammensetzung (Eisengehalt) einen eigentümlichen Einfluß ausüben (§ 183 ff.).

§ 177. Eiweißgerinnung. Labenzym. Daß es außer Mikroorganismen, die durch saure Gärung die Gerinnung der Milch bewirken (§ 97 ff.), auch solche gibt, die es, wie der „Lab“ der Magenschleimhaut und anderer tierischer und pflanzlicher Organe auch bei schwachsauren, neutralen oder alkalischen Reaktionen tun, haben schon *H a u b n e r*, *P a s t e u r*, *D u c l a u x*¹⁾, *H ü p p e*²⁾ u. a. bei Konservierungsversuchen der Milch, der letztere zuerst nach Impfung mit Reinkulturen seines *Bac. (pseudo-)butyricus* beobachtet. Daß es sich auch hier um ein Enzym handeln müsse, war zwar schon z. B. durch Versuche *D u c l a u x*³⁾, in denen die schnelle Wirkung von labenthaltenden Bakterienkulturen gezeigt wurde, genügend sicher bewiesen. Das Enzym stellte aber erst *C o n n*⁴⁾ aus solchen Kulturen dar. Dieselben wurden durch Papier filtriert, neutralisiert, mit Thymol, Toluol, Chloroform, Senföl oder dgl. versetzt, in verschiedenen Mengen — von einigen Tropfen bis zu einigen Kubikzentimetern — mit 5 ccm roher oder gekochter Milch vermischt, und die Mischung im Brutofen stunden- bis tagelang beobachtet. Kontrollen dürfen dabei nicht fehlen. Auch durch Ton filtrierte oder auf 60° erhitze Kulturen kann man benutzen. Am sichersten ist es, Milchkulturen zu verwenden, doch wird das Labferment oft auch in allen anderen Nährböden erzeugt und kann selbst aus Bakterien, die auf Kartoffeln gezogen werden, durch destilliertes Wasser ausgezogen werden (*G o r i n i*⁴⁾). Das Enzym wird reichlicher bei 20° als bei 37° erzeugt, die Labwirkung selbst erfolgt aber kräftiger bei letzterer Temperatur. Das Enzym des *Bac. prodigiosus* soll nach *G o r i n i* im Gegensatz zu fast allen anderen Enzymen, die schon bei 60—75° zerstört werden, erst durch halbstündiges Erhitzen auf 100° vernichtet werden⁵⁾. Nach *H a t a*⁶⁾

1) *Le lait*, 1887 und 1894.

2) *Mitteil. k. Gesundheitsamts* 2. 253, 1884.

3) *Zentr. Bakt.* 12. 233, 1892 und 16. 916, 1894.

4) *Hygien. Rundschau* 1893. 381 und *Rivista d'igiene e sanità pubblica* 1892 und 1893. *W e n t* (*Jahrb. wiss. Bot.* 36, 1901) fand umgekehrt bei seiner *Monilia sitophila* Lab nur auf Eiweißnährböden.

5) Vgl. auch *Zentr. Bakt.* 2. Abt. 8. 137, 1902.

6) *Zentr. Bakt.* 34. 208 Ref. und *K o c h s Jahresber.* 1903. 494.

der die Enzyme des *B. fluorescens* und *prodigiosus* (Lab und Trypsin gleichzeitig) durch wiederholtes Filtrieren, Niederschlagen mit Alkohol, Lösen in Wasser, Niederschlagen mit Schwefelammonium (schwefelsaures Ammon?) von Eiweiß reinigte, wurden beide bei 60—80° schon stark geschwächt, behielten aber bei 100° noch eine gewisse Wirkung. Rapp¹⁾ fand auch im Hefepreßsaft Labferment, obwohl lebende Hefe die Milch nicht koaguliert. Breymann²⁾ wies Lab in den Leibern des *Pyocyaneus* nach, die mit Chloroform abgetötet, getrocknet und gepulvert waren; 0,1 g dieses Bakterienpulvers ließ 10 ccm kuhwarme, mit 0,5% Karbolsäure versetzte Milch binnen 4 Stunden gerinnen.

Alle peptonisierenden Bakterien und Schimmelpilze scheinen auch Lab zu bilden, in erster Linie die sogenannten Heu- und Kartoffelbazillen (*Duclaux'* Tyrothrix), die auch als Bazillen der bitteren Milch bekannt sind³⁾, der *Bac. pyocyaneus*, *fluorescens liquefaciens*, *Sarcina aurantiaca* usw. Man kann die gleichzeitige Bildung beider Enzyme sehr hübsch nach der Methode von Eijkman⁴⁾ zeigen, indem man die Mikroorganismen auf Agarplatten, die mit Milch oder reinem Kasein versetzt sind, ausstreicht, so entwickelt sich um die Kolonie eine helle Zone, in der offenbar das tryptische Ferment wirkt, und außerhalb dieser eine dunkle Zone, in der das Kasein gefällt ist. Die Anwesenheit des tryptischen Ferments stört unter Umständen den Labungsprozeß. So zeigten nach A. Loeb⁵⁾ Kulturfiltrate des *Staphylococcus quadrigeminus* oder *Proteus*, wenn man sie nach der Morgenroth'schen Versuchsanordnung mit Chloroformmilch vermischt, zunächst 24 Stunden in den Eisschrank und dann in den Brutschrank brachte, einen unregelmäßigen Verlauf der Labung: während 0,01—0,025 ccm Filtrat gar nicht, 0,05 ccm stark laben, sank die Wirkung wieder bei 0,1 ccm und fehlte vollkommen bei 0,5—2,0 ccm. Eine nähere Untersuchung ergab, daß in der stärkeren Konzentration der Gehalt des Filtrats an tryptischen Enzymen störte. Die Störung blieb aus, wenn man die Filtratmilchmischung gleich in den Brutofen brachte. Dieses Verfahren ist also für die Feststellung der Labwirkung vorzuziehen.

Die Trennung des proteolytischen und Labenzym ist schwierig, sie kann aber nach Blumenthal und Conn (s. o.) folgendermaßen versucht werden: Milchkulturen, die nicht zu jung sein dürfen,

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 629, 1902.

2) Zentr. Bakt. 31. 498, 1902.

3) Vgl. Flüge, Zeitschr. f. Hyg. 17, 1894.

4) Zentr. Bakt. 29, 1901.

5) Zentr. Bakt. 32. 471, 1902.

werden durch ein Bakterienfilter geschickt, mit 0,1 prozentiger Schwefelsäure angesäuert und mit Kochsalz übersättigt. Der dabei entstehende schneeweiße Schaum soll fast reines Labferment enthalten, während aus der Flüssigkeit durch Fällung mit Alkohol proteolytisches Enzym gewonnen werden kann. Selbst in dem Falle, daß die Milch durch das Wachstum der lebenden Bakterien überhaupt nicht gerinnt, sondern gleich aufgehellert (peptonisiert) wird, ist es C o n n gelungen, das Vorhandensein von Labenzym in der Kultur nachzuweisen. Nach ihm wird es langsamer bzw. später gebildet als das peptonisierende, nach D u c l a u x schneller und früher. Bis in die letzte Zeit hinein ist übrigens über die Frage, ob die koagulierenden und proteolytischen Fermente identisch seien, gestritten worden¹⁾. Ein gewisser Zusammenhang ist unleugbar.

Im allgemeinen kann man schon aus dem Verhalten der Mikroorganismen in der Milchkultur auf die Bildung von Lab schließen: gerinnt die Milch schnell und stramm unter stark saurer Reaktion, so handelt es sich um Bakterien, die Milchzucker vergären (§ 97 ff.), bleibt die Milch amphoter, oder wird sie alkalisch, und erfolgt die Gerinnung erst allmählich und führt nur zu einem lockeren Gerinnsel, so ist Lab entwickelt. Es gibt freilich Fälle, in denen man zweifeln kann, weil die Gerinnung langsam und unter Steigerung der sauren Reaktion eintritt. Das könnte durch Bakterien bewirkt werden, die gleichzeitig Milchzucker vergären und Lab bilden. G o r i n i hat, wie wir sahen (S. 286 u. 289), in der Tat eine solche Zwischengruppe von S ä u r e - L a b b i l d n e r n aufgestellt und rechnet dazu den *Bac. prodigiosus*, *indicus*, *proteus mirabilis*, einige in der Milch regelmäßig vorkommende Staphylokokken und den „*Ascobazillus vitreus*“. Daß es viele derartige Bakterien unter den verflüssigenden gibt, ist auch nach unseren Erfahrungen unbestreitbar, aber ob die Gärung durch das Labenzym oder die Säuerung bewirkt wird, muß doch erst in jedem einzelnen Falle bewiesen werden. Besonders ausführlich untersucht haben B o e k h o u t und d e V r i e s²⁾ ein die Gelatine verflüssigendes Bakterium, das sie im Cheddarkäse fanden. Die Milch wird durch dieses mit stark saurer Reaktion zur Gerinnung gebracht und dann peptonisiert. Wenn man die gebildete Säure von vornherein durch kohlensauren Kalk neutralisierte, trat dennoch Gerinnung ein und nachher wieder Peptonisierung. Daß die Säure Milchsäure ist, zeigten die Verfasser dadurch, daß sie die wieder verflüssigte Milch von der

1) Vgl. S a w i t s c h , Zeitschr. physiol. Chem. 55, 1908; R a u d - n i t z in S o m m e r f e l d s Handb. der Milchkunde, 1909.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 587, 1904.

Kreide abgossen und im Vakuum unter 50° bis zur Sirupdicke eindampften. Der auskristallisierte milchsaure Kalk wurde abfiltriert, dann wieder in Wasser gelöst, mit Oxalsäure gefällt, wieder abfiltriert und eingedampft, mit Äther ausgeschüttelt, und die Milchsäure als Zinksalz in der bekannten Weise dargestellt. Um das gleichzeitig vorhandene Labferment zu erhalten, unterwarfen die Verfasser die vom Kalklaktat abfiltrierte Flüssigkeit unter Zusatz von Chloroform der Dialyse, bis kein Milchzucker mehr vorhanden war, engten den Inhalt des Dialysators im Vakuum bei 50° ein und setzten von der neutral reagierenden Flüssigkeit einige ccm 100 ccm Milch zu. Bei 40° gerann diese in wenigen Minuten.

Möglich wäre es, daß die Labenzyme der einzelnen Mikroorganismen verschieden wären, z. B. wie die proteolytischen Fermente sich durch Hitzeeinwirkung (s. o. G o r i n i) voneinander trennen ließen. Ein anderes Unterscheidungsverfahren würde gegeben sein, wenn es gelänge, auch mit den bakteriellen Enzymen, wie mit tierischen und pflanzlichen A n t i l a b s e r u m herzustellen¹⁾. Nach H a t a (s. o.) wäre das der Fall. Doch scheinen die Antienzyme, die auch schon im normalen Blutserum vorhanden sind, die Labwirkung nicht völlig aufzuheben.

Welche B e d e u t u n g die Labgerinnung hat, ist zweifelhaft. Es ist wohl behauptet worden, daß sie die Verdauung des Kaseins erleichtere, ein Beweis dafür fehlt aber. Wie der V o r g a n g s e l b s t zu deuten ist, steht trotz zahlreicher Arbeiten darüber noch zur Erörterung²⁾. Die Theorie H a m a r s t e n s, nach der das durch Säurefällung zu erhaltende eigentliche Kasein der Milch durch die Labung in zwei Körper, das in Lösung bleibende „Molkeneiweiß“ und das durch die E r d a l k a l i s a l z e der Milch niedergeschlagene „Parakasein“ gespalten würde, zählt freilich mehr Anhänger als die Lehre D u c l a u x', nach der Lab- wie Säuregerinnung nur ein physikalischer Vorgang sein soll, durch den das Kasein nicht chemisch verändert, sondern seine Moleküle nur zu großen Konglomeraten zusammengeballt werden³⁾. Von bakteriologischer Seite ist die Streitfrage nicht

1) M o r g e n r o t h, Zentr. Bakt. 26 und 27, K o r s c h u n, Zeitschr. physiol. Chem. 36, 1902.

2) Vgl. dazu R a u d n i t z a. a. O.

3) Vgl. L ö w e n h a r t, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 1904. Hier sei auch an die „Plasteine“ und „Koagulosen“ erinnert, die nach D a n i l e w s k y, O k u n e w, S a w j a l o w und K u r a j e f f (Hofmeist. Beitr. 1 u. 2) durch tierische und pflanzliche Labfermente aus Albumosen niedergeschlagen und mit der Eiweißsynthese in Verbindung gebracht werden (vgl. aber L a w r o w und S a l a s k i n, Zeitschr. physiol. Chem. 36, 1902). Bei Mikrobenprodukten hat man ähnliches noch nicht beobachtet.

behandelt worden. Wichtig ist für den Nachweis des Labenzym die Tatsache, daß durch Kochen der Milch deren Labungsfähigkeit verringert wird, weil Kalksalze dabei ausgeschieden werden. Durch ein Zufügen von Kalziumchlorid zur sterilisierten Milch kann dem begegnet werden.

Ob Bakterien imstande wären, außer der Kaseinausfällung auch die Blutgerinnung zu beeinflussen, darüber war bis vor kurzem wenig bekannt. L. L o e b ¹⁾ wies einen solchen Einfluß nach, indem er Gänseblut, das nach dem Verfahren von D e l e z e n n e unter strenger Vermeidung von Staub und Berührung von Gewebssaft aufgefangen, durch schnelles Zentrifugieren von den Blutkörperchen befreit und dadurch gerinnungsunfähig geworden war, mit Bouillonkulturen versetzte. Eiterstaphylokokken beschleunigten die Gerinnung sehr deutlich, weniger Bac. prodigiosus und coli, so gut wie gar nicht Bac. typhi, diphtheriae, tuberculosis und Streptokokken. Die Reaktion der Kulturen war ohne Bedeutung, Sterilisierung hob die Wirkung auf. Die Frage verdiente weiter studiert zu werden.

Der Aufklärung bedarf die von verschiedenen Seiten²⁾ und auch von uns beobachtete Erscheinung, daß in Blutserumnährböden, die Zucker enthalten, durch Bakterien, die den Zucker säuern, Niederschläge erfolgen können.

§ 178. Käsureifung³⁾. Von manchen Seiten ist der Versuch gemacht worden, die sogenannte Reifung des Käses, die in einer mehr oder weniger tiefgreifenden Veränderung des Käsestoffes besteht, im wesentlichen als einen Vorgang hinzustellen, der durch die in der Milch und im Lab ursprünglich enthaltenen Enzyme verursacht würden. Für das dem Lab beige-mengte Pepsin wäre eine Beteiligung an der Peptonisierung des Käse-eiweißes von vornherein nicht unwahrscheinlich. B a b c o c k und R u s s e l l ⁴⁾ haben aber nicht nur darauf hingewiesen, sondern auch behauptet, daß in der Milch selbst, wenn in ihr das Bakterienwachstum durch Chloroform oder Äther verhindert werde, eine Proteolyse mit Bildung von Albumosen und Peptonen, Aminosäuren und Ammoniak Platz greife. Sie führen das auf ein in der Milch ursprünglich enthaltenes trypsinähnliches Enzym, die „Galaktase“, zurück. v. F r e u d e n -

1) Journ. med. research. 1903. 407, ref. Bull. Pasteur 1904. 25.

2) Vgl. S e g i n , Zentr. Bakt. 34. 212, 1903. Dort auch S. 210 einige Angaben über die ungleiche Fähigkeit der Säuren, Milchkasein (bzw. Nutrose) niederzuschlagen.

3) Vgl. dazu W e i g m a n n in L a f a r s Handb. d. techn. Mykol. 2, 1905 und S o m m e r f e l d s Handb. d. Milchkunde 1909.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 3, 1897: 6, 1900.

reich¹⁾, O. Jensen²⁾, Boekhout und Ott de Vries³⁾, van Slyke, Harding und Hart⁴⁾, Spolverini⁵⁾ u. a. haben zwar das Vorkommen der Proteolyse in derartig konservierter Milch bestätigt und geben zum Teil eine Mitwirkung der Galaktase bei der Käsereifung zu, weichen aber doch meist in der Wertschätzung dieses Enzyms und namentlich darin von B a b c o c k und R u s s e l l ab, daß sie die Möglichkeit des bakteriellen Ursprungs der Galaktase betonen. In der Tat ist die Milch bekanntlich schon in der Zitze der Kuh mehr oder weniger keimhaltig, die genannten Antiseptika töten die Keime auch nicht sämtlich ab, ja verhindern selbst nicht jedes nachträgliche Wachstum. Auch wenn man das Vorhandensein der Galaktase zugibt, lassen sich aber gewichtige Bedenken gegen ihre Bedeutung erheben. So reift der Cheddarkäse, an dem B a b c o c k und R u s s e l l ihre Studien hauptsächlich anstellten, trotz einer stark sauren Reaktion, welche die Wirkung der Galaktase aufhebt. Der wichtigste Einwand gegen die Bedeutung der Galaktase sowie des Pepsins ist aber die unleugbare Tatsache, daß sich Mikroorganismen in jedem Käse zu reichlich ansiedeln, als daß sie an den Veränderungen, die in ihm vor sich gehen, keinen wesentlichen Anteil haben sollten. Meist geht auch die Zersetzung im Käse viel weiter, als die durch proteolytische Enzyme verursachte, d. h. es entstehen Ammoniak und Fettsäuren⁶⁾ in solcher Menge, wie es bisher nur von den lebenden Organismen geleistet werden kann (vgl. § 166 u. 167 ff.).

Die Angaben über die Z a h l d e r B a k t e r i e n im Käse schwanken sehr, von Hunderttausenden bis zu Milliarden. Zum größten Teil hängt das wahrscheinlich von dem A l t e r des Käses ab. Zu Anfang steigt die Zahl gewöhnlich schnell, erreicht nach Tagen und Wochen ihre größte Höhe und sinkt dann ziemlich allmählich ab (v. F r e u d e n r e i c h⁷⁾, R u s s e l l und W e i n z i e r l⁸⁾, H a r r i s o n⁹⁾, T r o i l i - P e t t e r s s o n¹⁰⁾). Die Verteilung der Bakterien ist, wie

1) Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1897 und 1900.

2) Ebenda 1900 und 1901.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7, 1901.

4) K o c h s Jahresber. 1901. 479.

5) Ebenda 1902.

6) Über die Untersuchung auf Fettsäuren, die zum Teil allerdings aus Zersetzungen der Milchsäure herrühren, vgl. J e n s e n , Zentr. Bakt. 2. Abt. 13, 1904.

7) Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1891.

8) Zentr. Bakt. 2. Abt. 3, 1897.

9) K o c h s Jahresber. 1901.

10) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11, 1903.

Troili-Pettersson, Gorini¹⁾ und Rodella²⁾ in Schnitten zeigen, eine unregelmäßige, vielfach finden sich zoogloenartige Anhäufungen.

Was die Herkunft der Keime anlangt, so sind Quellen genug in dem Bakteriengehalt der Milch, des Labs, der Gefäße und Räume, die der Käsebereitung dienen, vorhanden. Mehrfach wird auch alter Käse als Impfstoff benutzt.

Unter den Mikroben des Käses herrschen der Zahl nach die Milchsäurestreptokokken (*Strept. lacticus* § 97) regelmäßig vor. Ihre Bedeutung für den Reifungsvorgang besteht in erster Linie wohl darin, daß sie durch die saure Reaktion, die sie hervorrufen, „gewissermaßen eine Auswahl unter der anfangs reichen Flora des Käses treffen und damit den ganzen Gärungsvorgang in eine bestimmte Bahn leiten“ (Weigmann). Vielleicht unterstützen sie durch die saure Reaktion auch die peptonisierende Wirkung des Pepsins aus dem Lab (O. Jensen). Ein Teil von ihnen vermag aber außerdem die Peptone weiter zu spalten. Mehr als die Milchsäurestreptokokken scheinen dazu allerdings die nach v. Freudenreich im Schweizer Käse vorhandenen, wahrscheinlich aus dem Lab stammenden Rassen von langen Milchsäurebazillen (*Bac. casei* α und ϵ S. 288) befähigt zu sein, ja sie zersetzen auch das Kasein, obwohl sie es nicht peptonisieren³⁾. Trotzdem ist es sehr zweifelhaft, ob die ursprünglich von v. Freudenreich⁴⁾ verfochtene und auch neuerdings noch festgehaltene (Thöni⁵⁾, Mazé⁶⁾) Ansicht, nach der die Milchsäurebakterien für die Reifung verantwortlich zu machen seien, abgesehen vielleicht von gewissen Fällen (z. B. im Schweizerkäse?), berechtigt ist. Es bedarf dazu im allgemeinen wohl kräftigerer Eiweißspalter. Als solche haben schon Dulaux und Bencke⁷⁾ unabhängig voneinander die in der Milch immer vorhandenen sporenbildenden und verflüssigenden, „Kasease“ bildenden Bazillen aus der Gruppe der Heubakterien („*Tyrothrix*“) bezeichnet. Namentlich Adametz⁸⁾ hat sich dem angeschlossen und betrachtet vor allem den *Bac. nobilis* wegen des

1) Zentr. Bakt. 12, 1904.

2) Ebenda 15, 1905.

3) O. Jensen, Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1904. Über die Bildung von Milchsäure aus Peptonen durch Streptokokken (Kaiser) und lange Bazillen (Rodella) s. S. 298 u. 543.

4) Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1894 ff.

5) Ebenda 1906.

6) Annal. Pasteur 1905.

7) Zentr. Bakt. 1. 521, 1887.

8) Landwirtsch. Jahrb. 18, 1889; Österr. Molkereizeitung 1899.

edlen an Emmenthaler erinnernden Käsegeschmacks, den er erzeugt, als die Hauptursache der Reifung. Von anderen Forschern sind peptonisierende Bakterien, die nicht Sporen bilden, Bazillen und besonders auch Kokken (*Micr. casei liquefaciens* § 171) mehr in den Vordergrund gestellt worden (Weigmann¹⁾, Gorini²⁾, v. Freudenreich³⁾, Laxa⁴⁾, Jensen⁵⁾, Epstein⁶⁾ u. a.). Diejenigen von ihnen, die sich zum Teil durch Erzeugung bestimmter Käsegerüche auszeichnen, werden von Weigmann als „eigentliche Käsebakterien“ von den nur durch ihre proteolytische Fähigkeit wichtigen „Kaseasebakterien“ unterschieden. Ein Teil von ihnen, die früher öfters erwähnten Säurelabbakterien (§ 171), eignen sich nach Gorini zur Reifung des Käses deswegen besonders, weil sie auch bei saurer Reaktion ihre Tätigkeit entfalten. Alle haben, wie die Tyrothrixarten, die Eigenschaft, vorzüglich oder ausschließlich bei Luftzutritt zu wachsen. Das paßt vortrefflich zu der bekannten Tatsache, daß die Reifung des Käses ja allermeist von außen beginnt, während in der Mitte ein quarkartiger Kern zurückbleibt. Mit Weigmann könnte man sich vorstellen, daß die Milchsäurebildner in der Rindenschicht von den peptonisierenden Bakterien überwuchert werden, die durch Bildung von Ammoniak und Säureverzehrung die für die Wirksamkeit ihrer eiweißspaltenden Fermente nötige Reaktion herstellen.

In manchen Käsen vertreten andere Aërobier, namentlich Schimmelpilze, die peptonisierenden Bakterien, so im norwegischen Gammelost (Johan-Olsen⁷⁾), im Brickäse (Epstein⁸⁾), vor allen Dingen aber, wie der Augenschein schon lehrt, im Stilton, Roquefort, Gorgonzola und Stracchino. Damit ist aber der Kreis der für die Käserei wichtigen Organismen noch lange nicht erschöpft. Teils durch Säureverzehrung (§ 149), teils durch Riechstoffbildung wirken nämlich noch hier und da andere Pilze mit, wie das *Oidium lactis* (Weigmann, Laxa, Conn⁹⁾ und seine Mitarbeiter), Milchzuckerhefen (Mazé¹⁰⁾), sowie nach Ro-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2, 1896; Milchzeitung 1898.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5, 1899 und 8, 1902.

3) Ebenda 2, 1896.

4) Ebenda 5, 1899.

5) Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1901.

6) Arch. f. Hyg. 43, 1902.

7) Zentr. Bakt. 2. Abt. 4, 1898.

8) Arch. f. Hyg. 45. 1902.

9) Kochs Jahresber. 1905.

10) Annal. Pasteur 1903.

della¹⁾ Anaërobier. Der Käsegeruch entsteht vielleicht auf verschiedene Weise, nämlich durch Zersetzung von Eiweißstoffen, wozu Pilze und Bakterien befähigt sind (§ 173), Fetten, wozu namentlich Pilze beitragen (§ 137 u. 150), vielleicht aber auch von Milchzucker (§ 111).

Wie man sieht, ist die Käsereifung ein Vorgang, der von der Sym- und Metabiose (§ 50) verschiedener Mikroorganismen²⁾ abhängt. In der Tat ist es mehrfach gelungen, durch künstliche Zumischung von Reinkulturen zu pasteurisierter Milch oder Kasein Käse von der Beschaffenheit der in üblicher Weise hergestellten zu erzeugen. Man beherrscht aber das Verfahren noch nicht so, daß die Verwendung von Reinkulturen in der Käserei auch nur entfernt in dem Maße Eingang gefunden hätte, wie in der Brauerei oder Brennerei (§ 94 u. 96) oder selbst bei der Butterherstellung (§ 111).

Abweichungen von der normalen Reifung, Krankheiten des Käses werden ebenfalls auf Mikroorganismen zurückgeführt. Am häufigsten ist die Blähung. In erster Linie sind für sie milchzuckervergärende Bakterien aus der Aërogenes- und Coligruppe³⁾, aber auch andere Gärungserreger (Staphylo- und Streptokokken, Hefen, manche Tyrothrixarten⁴⁾) verantwortlich zu machen, die zum Teil aus dem entzündeten Euter von Kühen stammen. Wahrscheinlich haben sie, wenigstens im Schweizer Käse, nichts zu tun mit den Erregern der normalen Lochbildung, die entweder in den Klassen der eiweißzersetzenden Bakterien, d. h. der eigentlichen Käsereifer zu suchen sind⁵⁾ oder, wie neuerdings v. Freudenreich und Jensen für den Schweizer Käse wahrscheinlich gemacht haben, zu den Propionsäurebakterien gehören (§ 109 u. 142). Außerdem sind noch Färbungen durch Pigmentbakterien beobachtet worden (§ 255), ferner Geschmacksveränderungen durch Mikroben der bitteren Milch und des bitteren Käses, die zu den Kokken, Bazillen, Hefen und Schimmelpilzen gehören. Der Bitterstoff soll nach Trillat und Sauton⁶⁾ ein harzähnlicher Stoff sein, dessen Bildung auf gleichzeitiger Entwicklung von Aldehyden und Ammoniak beruht (vgl. § 171 u. 173). Es gibt Fälle, wo ein Bakterium beides erzeugt, und andere, wo eine Symbiose

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10, 11, 12, 15, 1903—1905.

2) Vgl. auch Henrici, Baseler Dissert. 1893, der zahlreiche Bakterien aus Käsen beschreibt.

3) v. Freudenreich, Ann. microgr. 1890 und 1891.

4) Adametz, Kochs Jahresber. 1893; Peter, Landwirtsch. Jahrb. Schweiz 1901.

5) Jensen, Zentr. Bakt. 2. Abt. 4, 1898.

6) Annal. Pasteur 1908. 3.

z. B. zwischen Milchzuckerhefen¹⁾ und gewöhnlichen Ammoniakbildnern vorliegt.

Über das Käsegift (Tyrotoxin) V a u g h a n s vgl. § 259. Gewöhnlich sind die „Käsevergiftungen“ wohl Infektionen, deren Erreger den sogenannten Fleischvergiftungen nahestehen (§ 287).

§ 179. Gemischte Fäulnis und Verwesung. Produkte derselben. Wenn wir auch § 167 u. 176 gesehen haben, daß die Anwendung der Begriffe Fäulnis und Verwesung auf die Zersetzungen von Eiweißkörpern durch die einzelnen rein kultivierten Mikroorganismen Schwierigkeiten begegnet, und man hier besser Spaltungsvorgänge und Oxydationen unterscheidet, so sind jene Bezeichnungen kaum entbehrlich, wenn man die in der Natur in größter Ausdehnung vorkommenden Zersetzungsprozesse, die durch eine Vielheit von neben- und nacheinander wirkenden Mikroorganismen erzeugt werden, zusammenfassen will. Fäulnis haben wir dann vor uns, wenn die Zersetzung wesentlich ohne Beteiligung des Luftsaauerstoffs verläuft, Verwesung, wenn sie maßgebend durch ihn beeinflusst wird (Liebig). In der Natur der Sache liegt, daß eine scharfe Trennung der beiden Begriffe nicht möglich ist. Deshalb besprechen wir die zugrunde liegenden Vorgänge auch gemeinsam. Im allgemeinen macht man die Voraussetzung, daß Fäulnis und Verwesung stickstoffhaltige Körper von der komplizierten Zusammensetzung der Eiweißstoffe betrifft, da man ja die Umwandlungen der einfacheren Stoffe mit besonderen Namen, z. B. alkoholische, milchsaure, essigsäure, oxalsäure Gärung des Zuckers, Sumpfgasgärung der Zellulose, der Essigsäure, Verzehrung der Fettsäuren, Spaltung der Fette, ammoniakalische Gärung des Harnstoffs, Stickstoffgärung des Salpeters, Salpetergärung des Ammoniaks, Schwefelsäuregärung des Schwefelwasserstoffs zu bezeichnen pflegt. Doch fehlen wegen der Beimischung der betreffenden Stoffe bei der natürlichen Fäulnis und Verwesung kaum jemals solche Vorgänge, manchmal erreichen sie einen so beträchtlichen Umfang, daß der Verlauf der Zersetzung dadurch erheblich beeinflusst wird. Um so weniger sind aber diese begleitenden Vorgänge aus der Besprechung der Fäulnis und Verwesung auszuschalten, als ein großer Teil der Zersetzungsprodukte des Eiweißes selbst ja zu den genannten weiterer Zersetzung fähigen Stoffen, z. B. den Fettsäuren, gehört, ja die wichtigsten schwefel- und stickstoffhaltigen Produkte der Fäulnis und Verwesung Schwefelwasserstoff und Ammoniak sind,

1) Genaueres über *Torula amara* bei H a r r i s o n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 9, 206, 1902.

die teils schon durch die Wirkung der sie erzeugenden Mikroorganismen selbst, teils durch das Eingreifen allgemein verbreiteter „Salpeter-“ und „Schwefelsäurebakterien“ in die eigentlichen „Endprodukte der Verwesung“ (s. u.) verwandelt werden.

Ebenso wichtig wie die Zusammensetzung sind die Konzentration, Reaktion und Durchlüftung des Nährbodens, die physikalischen Verhältnisse wie Wärme, Licht, Bewegung und Oberflächenwirkungen (z. B. im Boden). Die Art der zufällig hineingeratenen Organismen ist natürlich von ausschlaggebender Bedeutung für die Beschaffenheit der Zersetzungsprodukte, letztere ihrerseits haben aber wieder, ebenso wie die Zusammensetzung des Nährbodens und die äußeren Bedingungen eine Rückwirkung auf die Lebewesen der zersetzten Flüssigkeit. Durch alle diese Umstände erklärt sich die außerordentliche Mannigfaltigkeit der unter dem Namen der Fäulnis und Verwesung begriffenen Vorgänge. Es braucht kaum gesagt zu werden, daß die Zersetzung nicht nur sehr verschieden ist je nach der Beschaffenheit des Ausgangsmaterials und den übrigen Verhältnissen, sondern daß man auch je nach dem Zeitpunkt, in dem man untersucht, einen mehr oder weniger vollständigen Wechsel in den Erscheinungen findet. Bisher sind diese leider nur in beschränktem Umfange studiert worden, und zwar meist nicht gleichzeitig vom chemischen und vom mikrobiologischen Standpunkt. Wir werden das darüber Bekannte in den folgenden Abschnitten besprechen. Von vornherein könnte man erwarten, daß die Fäulnis bzw. Verwesung, wenn sie vollständig wäre, das Eiweiß in seine letzten Endprodukte Kohlensäure und Wasser, Ammoniak bzw. Salpetersäure, Schwefelwasserstoff bzw. Schwefelsäure und Phosphorsäure zerlegte. Bisher hat man das aber niemals unmittelbar beobachtet, sondern es nur daraus erschlossen, daß man in der Natur bei der Fäulnis und Verwesung von Leichnamen in der Erde (§ 183) nach einer gewissen Zeit an der Stelle und in der Umgebung des zersetzten Körpers nichts anderes findet, als obige Endprodukte. Streng genommen ist freilich auch das nicht einmal richtig. Denn wohl stets bleibt außerdem noch ein gewisser Rest einer merkwürdigen dunklen verwickelt gebauten Substanz übrig, des sogenannten Humus (s. u.). Ferner wird wohl ein Teil der flüchtigen Zwischenprodukte der Fäulnis und Verwesung, auch abgesehen von Schwefelwasserstoff und Ammoniak, durch Verdunstung in die Atmosphäre oder durch Fortspülung mit dem Wasser der weiteren Zersetzung entrückt. Doch kann man von diesen Stoffen vielleicht annehmen, daß sie entweder früher oder später wieder auf einem Umwege — durch die Niederschläge — auf die Erde zurückgelangen oder im Wasser selbst der Zersetzung durch Mikroorganismen doch schließlich anheimfallen, soweit sie nicht schon vor-

her durch andere Kräfte wie Sonne oder Luftsauerstoff zerstört worden sind. Wichtiger ist dagegen ein anderer Einwand, der sich von selbst ergibt, wenn man sich in Gedanken den Vorgang des allmählichen Stoffzerfalls vergegenwärtigt. Wo bleiben die Mikroorganismen selbst, die diese verursachen? Sie stellen doch auf jeder Stufe der Zersetzung einen nicht unbedeutenden Teil der organischen Substanz dar, und zwar stets verwickelte Stoffe, d. h. im wesentlichen Eiweiß. Die Lösung des Rätsels ergibt sich aus unserer bakteriologischen Erfahrung vielleicht in folgender Weise. Die Lebensdauer der Mikroorganismen ist eine beschränkte, sie sterben schließlich ab und zerfallen durch Selbstverdauung oder Selbstverbrennung (§ 36, 37, 166 u. 226). Dadurch werden teils Endprodukte des Stoffwechsels, wie Ammoniak und Kohlensäure, teils Nährstoffe frei für andere Arten von Mikroorganismen, die sie in ihrer zersetzenden Tätigkeit ablösen. Auch diese zerfallen wieder und werden durch andere ersetzt. Wir wissen nun aber, daß die bei den einzelnen Gärungs- und Oxydationsprozessen wirksame Mikroorganismensubstanz nur einen Bruchteil der Nährsubstanz ausmacht, der etwa von 0,5—30% schwankt (vgl. § 232—236). Nehmen wir an, daß er durchschnittlich 10% betrüge, so würden wir nach 10 sich abwechselnden Generationen von Organismen nur noch $\frac{1}{10}^{10}$, d. h. einen verschwindend geringen Teil der ursprünglich wirksamen Mikrobensubstanz vorfinden. Nur dadurch, daß die Kleinwesen in Dauerformen übergehen, können sie der schließlichen Auflösung entgehen oder ihr wenigstens länger widerstehen. Ein beschränkter, an Masse freilich sehr geringer Teil der bei der Fäulnis und Verwesung wirksamen Bakterien erhält sich in der Tat in Sporen in den tiefen Erdschichten (vgl. C. Fränkel, Zeitschrift f. Hyg. 2, 1887).

Doch nicht immer, und stets nur in größeren Zeiträumen und unter bestimmten im Erdboden gegebenen Bedingungen vollzieht sich die Fäulnis und Verwesung in dieser Weise. Besonders die Pflanzensubstanz hinterläßt gewöhnlich recht bedeutende Reste von Humus, dessen letzte Verwandlungsprodukte aus geologischen Zeiten wir wohl in den Kohlen zu sehen haben (§ 118). Von tierischen Stoffen widerstehen am besten die Fette, wie uns anscheinend auch wieder die Ansammlungen von Erdöl in geologischen Schichten beweisen (§ 151). Überall, wo es sich um nicht so alte Zersetzungen handelt, begegnen wir den zahlreichen Zwischenprodukten der Fäulnis und Verwesung, deren Entstehung im einzelnen wir schon in den § 164—177 bei den durch Reinkulturen verursachten Veränderungen des Eiweißmoleküls besprochen haben. Sie sind fast sämtlich schon von den älteren Forschern, die sich mit dem Chemismus der gemischten Fäulnis und Verwesung beschäftigt haben, beobachtet worden. Wir verzichten hier auf die

ausführliche Wiedergabe dieser älteren Literatur¹⁾, weil sie nur noch geschichtliche Bedeutung besitzt, und beschränken uns, darauf hinzuweisen, daß von den Aminosäuren des Eiweißes bisher anscheinend nur Alanin, Aminobuttersäure, Aminobaldriansäure, Zystein und Pyrrolidinkarbonsäure noch nicht unmittelbar als bakterielle Zersetzungsprodukte nachgewiesen worden sind; während sämtliche Fettsäuren von der Kapronsäure abwärts, ferner Bernstein-, Milch-, Oxalsäure, die aromatischen Säuren (§ 168), Kohlenwasserstoffe und Alkohole (§ 169), außerdem Ammoniak, eine große Zahl von Basen (§ 170), von Schwefelverbindungen Schwefelwasserstoff (§ 205), Methylmerkaptan (§ 206), Schwefelsäure (§ 207), von Phosphorverbindungen wahrscheinlich nur Phosphorsäure (s. u.), von Gasen hauptsächlich Kohlensäure, ausnahmsweise Wasserstoff, Sumpfgas und Stickstoff (s. u.) gefunden wurden. Dazu kommen dann noch die humusähnlichen Körper (s. u.). Von den genannten Stoffen sind durchaus nicht alle gleich wichtig. Viele sind sogar selten gefunden worden. Als chemisch auch quantitativ gut studiertes Beispiel einer unter strengem Luftabschluß erst bei 35°, dann bei 45° 130 Tage lang durchgeführten Fäulnis nennen wir die des defibrinierten Ochsenblutes. Berthelot und André²⁾ fanden dabei an Gasen nur Kohlensäure, aber weder Wasserstoff noch Sumpfgas, noch Stick- oder Sauerstoff. Ein Zwölftel des Gesamtkohlenstoffs des Blutes war in Kohlensäure verwandelt, zwei Drittel des Stickstoffs in Ammoniak. Beide standen in demselben Verhältnis wie bei der Harnstoffgärung (1 : 2). Der Rest des Kohlenstoffs war enthalten zu einem Drittel in flüchtigen Fettsäuren (Butter-, Propion-, Kapronsäure), zu zwei Dritteln in stickstoffhaltigen Verbindungen (Amiden, Humuskörpern). Alkohol oder Azeton wurden nicht gefunden, wohl Spuren eines schwefelhaltigen Aldehyds. Die Elementarzusammensetzung des Blutes hatte sich durch die Fäulnis derart verändert, daß nur Wasserstoff und Sauerstoff, im Verhältnis, wie sie in Wasser vorhanden sind, zugetreten waren, und zwar traten auf jedes Molekül Ammoniak zwei Moleküle Wasser ein.

Wenn hier und bei den meisten anderen Versuchen mit gemischter Fäulnis oder Reinkulturen Wasserstoff und Sumpfgas ver-

1) Vgl. außer den zerstreuten Angaben in den früheren Abschnitten C o h n h e i m , Eiweißkörper, 2. Aufl. 1904, S p i e c k e r m a n n in Lafars Handb. 3. 102, 1904.

2) Compt. rend. ac. sc. 114. 514; Annal. chim. phy. (6), 27. K o c h s Jahresber. 1892. 241.

mißt wurde, so traten beide sehr reichlich auf in Versuchen O m e l i a n s k y s¹⁾. Diese waren darauf gerichtet, die von T a p p e i n e r²⁾ zuerst an Fleischextrakt, dann an Pepton und Pflanzeneiweiß studierte Sumpfgasgärung der Eiweißstoffe wieder zu erhalten. Nach einigen Fehlschlägen gelang es, in verfaulten Wolle ein geeignetes Impfmateriale zu erhalten, das gekochtes Eiereiweiß, Gelatine, Tischlerleim, Wolle in zahlreichen Generationen in Sumpfgasgärung versetzte. Die Gase setzten sich dabei zu 12—67% aus Methan, zu 88—33% aus Kohlensäure zusammen. Ausnahmsweise kam auch etwas W a s s e r s t o f f (3—6%) vor. Eine ähnliche Gärung des Wittepeptons war schwieriger zu erhalten, zuerst entstand bei der Impfung 12% Wasserstoff neben den beiden anderen Gasen, in der dritten Generation war aber die Sumpfgasgärung auch hier eine reine. So reichliche Mengen Methan wie hier sind bisher in Reinkulturen nicht erhalten worden (vgl. § 168). Es handelt sich offenbar um besondere Erreger, die leider nicht rein gezüchtet worden sind.

Freier Stickstoff³⁾ und Phosphorwasserstoff⁴⁾, die früher oft als Produkte der Fäulnis und Verwesung aufgeführt wurden, werden dabei nach der jetzt herrschenden Ansicht nicht gebildet. Der Phosphor wird stets aus seiner organischen Bindung als P h o s p h o r s ä u r e abgeschieden. S t i c k s t o f f soll nur gefunden werden, wenn Nitrate in den Fäulnisprodukten vorhanden sind, sein Auftreten also denitrifizierenden Bakterien (vgl. § 198 u. 200) verdanken. Gegen diese Lehre haben K ö n i g, S p i e c k e r m a n n und O l i g⁵⁾ neuerdings gewichtige Bedenken geltend gemacht. Sie fanden bei der Zersetzung reiner Eiweißstoffe durch Heubakterien einen erheblichen Stickstoffverlust, der sich nicht durch Verdunstung von Ammoniak erklären ließ (vgl. S. 525). Die Mitteilungen von S c h i t t e n h e l m und S c h r ö t e r über Ausscheidung freien Stickstoffs beruhen wahrscheinlich auf Versuchsfehlern⁶⁾. Allgemein anerkannt als Enderzeugnis der Verwesung stickstoffhaltiger Körper ist die S a l p e t e r s ä u r e. Nur streitet man noch darüber, ob sie nur von den „Nitrobakterien“ (§ 196) oder gelegentlich auch von echten Eiweißzersettern erzeugt wird (§ 176).

Ein Teil der Fäulnisprodukte hat bekanntlich einen üblen G e r u c h, so der Schwefelwasserstoff, das Merkaptan, Trimethyl-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 15. 681, 1906.

2) Ber. chem. Ges. 1883. 1760 vgl. Sumpfgasgärung der Zellulose (§ 117), des Fleischextrakts (§ 192) und Darmgärung (Infektionslehre).

3) E h r e n b e r g, Zeitschr. physiol. Chem. 11 und 12.

4) H o p p e - S e y l e r, Physiol. Chem. S. 56; S t i c h, Kochs Jahresber. 1900. 305; Y o k o t e, Arch. f. Hyg. 50, 1904.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 539.

6) Vgl. O p p e n h e i m e r, Zeitschr. physiol. Chem. 41, 1903.

amin, Indol, Skatol. Daneben wird es aber noch eine Reihe unbekannter Körper geben, die an dem „fauligen Gestank“ beteiligt sind. Es darf übrigens nicht verschwiegen werden, daß die letztere Bezeichnung eine recht subjektive und daher keineswegs verlässliche ist. Sonst würde man sich die zahlreichen, einander widerstreitenden Angaben in der Literatur nicht erklären können. Daneben kommt freilich in Betracht, daß das Auftreten der Riechstoffe nachweislich von verschiedenen Bedingungen, unter denen die m a n g e l h a f t e L ü f t u n g der zersetzten Flüssigkeit in erster Linie steht, abhängig ist (§ 184). Daraus folgt schon, daß die Verwesung im allgemeinen nicht Gestank erzeugt.

Nebenprodukte, die bei der Fäulnis und Verwesung kaum jemals fehlen, sind, wie wir sahen, die dunkel gefärbten humusähnlichen Stoffe, auch „Melanoidine“ genannt. Sie enthalten noch ziemlich viel Stickstoff¹⁾, sind aber trotz ihres verwickelten Baues gegenüber Eingriffen, insbesondere auch der Mikroorganismen, sehr widerstandsfähig (s. o.). Während wir in ihren Grundzügen ferner die Bildungsweise der übrigen von der Fäulnis und Verwesung erzeugten Stoffe kennen, bleibt die der Humusstoffe noch aufzuklären (vgl. § 118).

Den oben aufgeführten Produkten kann man im allgemeinen nicht ansehen, ob sie durch Fäulnis oder Verwesung gebildet werden (§ 176) — höchstens wären die Oxal-, Schwefel- und Salpetersäure als charakteristische Erzeugnisse der Verwesung, d. h. der Oxydation durch freien Sauerstoff zu bezeichnen. Im übrigen pflegt das M e n g e n - v e r h ä l t n i s der einzelnen Produkte bei der Fäulnis und Verwesung ein anderes zu sein, indem bei der letzteren Kohlensäure (und Oxalsäure), bei der ersteren die Fettsäuren (und Riechstoffe, s. o.), also Zwischenprodukte der Zersetzung, überwiegen. Damit stimmt zusammen, daß in der Natur der H a u p t a n t e i l am Z e r f a l l der Eiweißkörper, wie die Erfahrung lehrt, der Verwesung zukommt. Das Studium der Wirkung von Reinkulturen hat uns ja ebenfalls zu dem Schlusse geführt, daß mindestens die stickstofffreien Produkte der Aërobier das Gepräge eines fortgeschritteneren Zerfalls an sich tragen, als die der Anaërobier. Die Erklärung für beide Reihen von Tatsachen liegt natürlich einfach darin, daß viele Stoffe, die für die anaërobe „Gärung“ nicht weiter angreifbar sind, durch Oxydation noch weiter verändert werden können. Von dem wichtigsten stickstoffhaltigen Produkt der Eiweißzersetzung, dem Ammoniak, kann man dagegen kaum sagen, daß es reichlicher von

1) H o p p e - S e y l e r, Zeitschr. physiol. Chem. 13, 1889; S c h m i e d e b e r g, Arch. exper. Path. 39, 1897.

Aërobiern als von Anaërobiern erzeugt wird, nur seine Umwandlung in Salpetersäure ist ausschließliches Werk der Verwesung.

Man könnte danach geneigt sein, die Frage, ob die Fäulnis denn für den Kreislauf der Stoffe ein notwendiger Prozeß sei, zu verneinen, würde dabei aber außer acht lassen, daß nicht selten unter natürlichen Bedingungen die Möglichkeit der Betätigung für Aërobier fehlt, und sie ihnen erst später durch die vorbereitenden Leistungen der Anaërobier verschafft wird.

§ 180. Erreger der Fäulnis und Verwesung, insbesondere des Fleisches. Wenn wir jetzt von den Erregern der Fäulnis und Verwesung sprechen, so dürfen wir dabei nicht vergessen, daß es nicht ausschließlich mikroskopische Wesen sind, die in der Natur die Zersetzung der abgestorbenen stickstoffhaltigen Stoffe besorgen. Höhere Organismen aus allen Gruppen des Tierreichs beteiligen sich vielmehr daran in ganz erheblicher Weise: Säugetiere, Vögel und Fische, die sich von „Aas“ nähren, vor allem aber die große Schar der Insekten, Krebse und Würmer betätigen sich in der Erde, in Schlamm und Wasser als Verzehrer der toten tierischen und pflanzlichen Substanz¹⁾. alle Tiere, Fleisch- und Pflanzenfresser, als Verbraucher des lebenden Eiweißes der Tiere und Pflanzen. Man kann sogar sagen, daß diese höheren Wesen den Prozeß der Zersetzung fast noch schneller und mindestens ebenso gründlich vollziehen, als die Mikroorganismen es können. Man denke nur an die riesigen Mengen von eiweißartigen Nahrungsstoffen, die z. B. ein warmblütiges Tier im Laufe seines Lebens zu Kohlensäure, Wasser und einfachen Ammoniakverbindungen verbrennt. Doch sind die höheren Wesen nicht überall und in genügender Zahl zur Stelle, um als Totengräber der organischen Substanz zu dienen, während die Kleinwesen niemals fehlen, und was dem einzelnen an Energie mangelt, durch ihre unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit ersetzen. Diese Allgegenwart („Ubiquität“) der Fäulnis- und Verwesungserreger ist freilich nicht in dem Sinne zu verstehen, daß es überall genau dieselben Formen seien, es herrscht vielmehr darin eine große Mannigfaltigkeit, wenn auch einzelne „Spezies“ fast überall in der einen oder anderen „Varietät“ oder „Rasse“ vertreten sind. Auch ihre Wirkungsweise ist im großen und ganzen die gleiche. Bei der echten Fäulnis stehen, wie schon Pasteur²⁾ erkannt, in erster Linie die strengen Anaërobier, die merkwürdigen Wesen, die nur bei Sauerstoffabschluß gedeihen, also gewissermaßen für die Fäulnis und die Gärungen überhaupt geschaffen zu sein scheinen.

1) Vgl. z. B. Wesenberg, Umformung des Erdbodens im „Prometheus“ 1905 Nr. 816. 817.

2) Compt. rend. ca. sc. 56. 1189, 1863.

Durch die Entdeckung *Rosenbachs*¹⁾ und namentlich *Hau-sers*²⁾, daß es auch bei Luftzutritt wachsende Bakterien (fakultative Anaërobier) gibt, die stinkende Fäulnis erzeugen können, wurden die Anaërobier eine Zeitlang in den Hintergrund gedrängt. *Flügge*³⁾ erwähnt zwar ihr Vorkommen und sein Schüler *Liborius*⁴⁾ isolierte einige eiweißzersetzende Anaërobier. Aber erst *Sanfelice*⁵⁾ gebührt das Verdienst, wieder auf ihre Bedeutung für die Fäulnis hingewiesen und sie rein gezüchtet zu haben, ohne freilich näher auf die chemischen Verhältnisse eingegangen zu sein. Er beschreibt neun verschiedene Arten, die sämtlich Sporen bilden und die Eigenschaft haben, fauligen Geruch zu entwickeln. Neben den Anaëroben findet *Sanfelice* als regelmäßigen Bewohner von faulenden Fleischaufgüssen die *Bac. proteus vulgaris* und *proteus mirabilis* *Hau-sers* (s. o.) wieder, daneben den *Bac. fluorescens liquefaciens* und den *Bac. subtilis* (Heubazillus). Auch außerhalb von Faulflüssigkeiten sind nach *Sanfelice* alle diese Keime weit verbreitet, besonders im Erdboden. Diese Arbeit geriet vielfach in Vergessenheit, zumal da *Santori*⁶⁾ und *Kuhn*⁷⁾ die ausschlaggebende Wirkung der Proteusbazillen bei der Fäulnis von Pflanzenteilen, Fleisch und Leichen hervorhoben, wenn sie auch das Vorkommen von Anaëroben nicht leugneten. *Bienstock*⁸⁾ machte dann wieder auf die letzteren besonders aufmerksam. Als die energischsten Fäulniserreger, die sogar allein imstande seien, Fibrin in Fäulnis zu versetzen, betrachtet er gerade die Anaërobier, in erster Linie den *Bac. putrificus coli*. Gleichzeitig mit *Bienstock* führte *E. Klein*⁹⁾ die Leichenfäulnis auf den vielleicht identischen *Bac. cadaveris sporogenes* zurück. *Salus*¹⁰⁾ schrieb ähnliche Eigenschaften zwei anderen Anaëroben, dem *Clostridium foetidum carnis* und dem *Bac. saprogenes carnis* zu (vgl. § 168). *Tissier* und *Martelly*¹¹⁾ unterwarfen die Fäulnis bzw. Verwesung von Fleisch von neuem einer gründlichen Untersuchung.

1) Mikroorganismen bei der Wundinfektion, 1884.

2) Über Fäulnisbakterien usw., 1885 und Zentr. Bakt. 12, 1892.

3) Mikroorganismen 2. Aufl., 1886, S. 310.

4) Zeitschr. f. Hyg. 1, 1886.

5) Contributo alla biologia a morfologia dei batteri saprogeni aërobi ed anaërobi. Ann. d'ig. sper. Roma 1890 (auch Atti Acad. med. Roma 1890).

6) Ebenda 1891.

7) Arch. f. Hyg. 13, 1891.

8) Ebenda 36, 1899.

9) Zentr. Bakt. 25, *Bienstock*, Arch. f. Hyg. 39, 382, vgl. auch Anm. 1 auf folg. Seite.

10) Ebenda 51, 1904.

11) Annal. Pasteur 1902.

Sie fanden, daß Stücke Fleisch, die sie unter einer Glasglocke, also bei Luftzutritt aufbewahrten, die folgende Fäulnisflora zeigten: In den ersten Tagen konnten sie nur Aërobier oder fakultative Anaërobier nachweisen, und zwar solche, die gleichzeitig Kohlenhydrate und Eiweiß angreifen. Zu diesen „ferments mixtes“ gehören der *Bac. proteus vulgaris*, *Micrococcus flavus liquefaciens*, *Staphylococcus pyogenes albus*, *Bac. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Diplococcus griseus non liquefaciens*, *Bac. filiformis*. Die Reaktion des Fleisches wurde unter dem Einfluß dieser Bakterien eine ausgesprochen saure, weil das Glykogen in (milchsaure) Gärung versetzt wurde. Daneben traten aber schon Spaltungsprodukte des Eiweißes, Albumosen, Leuzin, Tyrosin, Amine und Spuren von Ammoniak auf.

Nach 3—4 Tagen war der Nährboden durch die Arbeit der genannten Aërobier soweit von Sauerstoff befreit, daß jetzt auch strenge Anaërobier darin gedeihen konnten: der *Bac. perfringens* und *bifermens sporogenes*¹⁾. Beide gehören ebenfalls noch zu den fermentis mixtis, erzeugen aber vor allem stinkende Fäulnis. Ihr Auftreten macht sich bemerkbar durch den üblen Geruch ihrer Produkte. Die saure Reaktion des Fleisches wird jetzt durch die reichliche Produktion von Ammoniak herabgesetzt.

Nach 8—10 Tagen ist der Zucker des Fleisches verbraucht, auch die Fette verseift, ihr Glyzerin verbraucht, der Höhepunkt der stinkenden Fäulnis erreicht und viel Pepton, Indol, Phenol, Ammoniak, Schwefelwasserstoff usw. nachzuweisen. Die „ferments purs“ erscheinen jetzt, und zwar die „proteolytischen“, die auch das echte Eiweiß zu zerlegen vermögen, *Bac. putrificus coli* und *putidus gracilis*, beides Anaërobier, sowie die „peptolytischen“, die nur Albumosen und Peptone zerlegen: der *Diplococcus magnus anaërobius* und der *Proteus Zenkeri*.

Nach 3—4 Wochen beginnen die Peptone und Aminosäuren abzunehmen, das aus ihrer Spaltung hervorgehende Ammoniak nimmt zu bis 1,5%. Allmählich verschwinden die fermentis mixtis und überlassen den fermentis purs allein das Feld. Nach 3—4 Monaten ist das Fleisch in eine schwärzliche, schleimige Masse verwandelt, es enthält kein Pepton mehr, auch das Ammoniak hat stark abgenommen. Nur der *Bac. putrificus*, *gracilis putidus* und der aërobe *Diploc. griseus non liquefaciens* sind noch herauszuzüchten.

1) Sie stehen teils den fäulniserregenden Buttersäurebazillen von *Graberger* und *Schattenfroh*, dem *Bac. paraputrificus* *Bienstock's*, teils den Ödem- und Gasbrandbazillen (S. 356 u. 357) nahe.

Nicht immer waren bei der Fäulnis des Fleisches nach T i s s i e r und M a r t e l l y sämtliche hier genannten Spezies beteiligt, nur der *Bac. putrificus* fehlte niemals, immer waren Aërobier neben Anaërobiern vorhanden.

§ 181. Fäulnis und Verwesung anderer tierischer Stoffe. Etwas abweichende Ergebnisse hatten Tissier und Gasching¹⁾, wenn sie Milch in oben mit Watte verschlossenen Flaschen sich zersetzen ließen. Wie sich von vornherein erwarten läßt, überwiegen zunächst die reinen Milchsäurebakterien, der *Bac. acidi paralactici* und der „Enterokokkus“, die wir beide als Varietäten desselben *Streptococcus lacticus* (S. 286) auffassen, und der *Bac. coli* (aërogenes S. 289). Daneben vorhandene Heu- und Kartoffelbazillen und Staphylokokken, die das Kasein der Milch angreifen, kommen bei der fortschreitenden Säurebildung nicht auf. Wohl sind dagegen andere Mikroorganismen imstande, in der durch die Säure koagulierten Milch zu wachsen: auf der Oberfläche Schimmelpilze — und zwar regelmäßig *Oidium lactis*, seltener Mukorarten — in der Tiefe ein anaërober Buttersäurebazillus, der *Bac. lactopropylbutyricus* (S. 352). Unter dem Einfluß des letzteren, der vom Ende der zweiten Woche an nachzuweisen ist, steigt der Säuregrad der Milch weiter, während der Milchzucker schnell verschwindet. Nach einem Monat wird die Wirkung der Schimmelpilze dadurch deutlich bemerkbar, daß die Säure wieder abnimmt, sie wird von ihnen verzehrt, das Kasein gleichzeitig peptonisiert. An diesem Vorgang beteiligen sich auch proteolytische und peptolytische Bakterien, unter ihnen an erster Stelle der *Bac. faecali alcaligenes*, *Bac. proteus Zenkeri*, seltener der *Bac. putrificus coli* und *Proteus vulgaris*. Nach 3 Monaten ist das Kasein in eine schleimige, leicht stinkende Masse verwandelt, das Serum gelbbraunlich geworden. Die Pilzdecke zerfällt in dem jetzt alkalischen Medium. Nach 10 Monaten bleibt nur ein gelblicher, fadenziehender, übelriechender Bodensatz zurück, Kasein und Pepton sind zersetzt; Leuzin, Tyrosin, Fettsäuren und Ammoniak noch nachweisbar.

Man sieht, diese Zersetzung der Milch verdient wegen der ausschlaggebenden Mitwirkung der sauerstoffliebenden Schimmelpilze mehr den Namen der Verwesung als der Fäulnis. Gleichzeitig haben wir hier ein schönes Beispiel der Sym- oder besser der Metabiose von Mikroorganismen: die Milchsäurebakterien ermöglichen Buttersäurebazillen und Pilzen das Wachstum, die Pilze ebnen wieder durch Verzehrung der Säure eiweißspaltenden Bakterien den Weg und die letzteren verdrängen durch die alkalische Reaktion, die sie verursachen, die Pilze (§ 50).

1) Annal. Pasteur 1903. 540.

Die Fäulnis der Eier ist noch nicht so gründlich untersucht worden, wie die des Fleisches und der Milch. Man weiß nur, daß schon die Eier in der Kloake der Vögel mit Bakterien infiziert sein können, und daß diese, nachdem die Eier gelegt sind, weiter darin wuchern und sie verderben¹⁾. Hier anzuführen sind auch die früher besprochenen (S. 507) Versuche R e t t g e r s, die die Fäulnis in aus Fleisch und Eiern zusammengesetzten Nährböden betreffen, allerdings meist mit Reinkulturen angestellt, aber wieder doch so umfangreich sind, daß sie auch für die Frage der natürlichen Fäulnis der tierischen Nahrungsmittel Bedeutung haben. Von zahlreichen daraufhin geprüften Bakterien waren nur gewisse Anaërobie, nämlich der *Bac. putrificus*, des malignen Ödems und Rauschbrands imstande, ähnliche Fäulnis zu erregen, während die *Bac. coli*, *aërogenes*, *faecalis alcaligenes*, *proteus vulgaris*, *pyocyaneus*, *fluorescens liquefaciens* und *non liquefaciens*, *cloacae*, *prodigiosus*, *Staphylococcus pyogenes*, *Micrococcus albus* und *Streptococcus pyogenes* allein oder in verschiedenen Mischungen in der Nährlösung „keine sichtbaren Zeichen der Zersetzung“ hervorriefen²⁾. Impfte R e t t g e r gleichzeitig Anaëroben und Aëroben in eine Fleisch-Eiermischung, so waren die Ergebnisse verschieden je nach der Art der letzteren: *Coli* und *Aërogenes* verlangsamten die Fäulnis, *Proteus* beschleunigte sie. Menschliche Fäzes verursachten größtenteils ebenfalls mehr oder weniger starke Zersetzung des Nährbodens, es gelang aber R e t t g e r nicht, die dafür verantwortlichen Bakterien herauszuzüchten (s. u. S. 570).

Absichtlich ruft man eine, freilich begrenzte Fäulnis tierischer Stoffe hervor in der Gerberei, um Haare, Oberhaut und gewisse Bestandteile der Lederhaut zu entfernen. Die Häute werden dazu teils einfach mit Wasser „eingeweicht“ und „abgeschwitzt“, wobei man auf die Tätigkeit der überall vorhandenen Fäulniserreger rechnet, teils unter Zusatz von Mist „gebeizt“. Die Beize mit Kleie dient nur zur Lockerung der Fasern durch die dabei stattfindende Entwicklung von Gärungsgasen. In den dann angewandten eigentlichen „Gerbrühen“ fehlen zwar Gärvorgänge nicht, sie sollen aber im wesentlichen nicht zur Auflösung der Hautsubstanzen dienen, sondern nur Säuren hervorbringen, die die Hautfasern für die Gerbung vorbereiten³⁾.

1) Über die Flora der Eier vgl. Z ö r k e n d o r f e r, A. 16, 1893; A b e l und D r ä e r, Zeitschr. f. Hyg. 19, 1895.

2) Über die älteren Ergebnisse R e t t g e r s und anderer Forscher (vgl. S. 540).

3) Über die bei der Gerberei wirkenden Bakterien s. A n d r e a s c h, „Der Gerber“ 1895—97, vgl. auch bei E i t n e r in L a f a r s Handb. 5. 21. 1905.

Über die „Käsereifung“, die ebenfalls beschränkte Eiweißspaltung im Käse, s. § 178.

§ 182. **Fäulnis und Verwesung von Pflanzenstoffen.** Der Verwesung der Milch an die Seite zu stellen ist die Zersetzung gewisser stickstoffreicher vegetabilischer Futtermittel, z. B. des Baumwollsaatmehls. Nach König, Spieckermann und Olig¹⁾ verläuft der Prozeß, wenn man das feuchte Mehl in dünner Schicht bei Sauerstoffzutritt aufbewahrt, in folgender Weise: zunächst treten auch hier Bakterien (*B. coli*) auf, die aus dem Zucker des Nährbodens Säure bilden. Die Proteinstoffe bleiben dabei ziemlich unberührt. Die saure Reaktion ruft dann eine starke Schimmelpilzwucherung hervor, die ihrerseits wieder durch die Verzehrerung der Säure peptonisierenden Bakterien aus der Gruppe der Heu- und Kartoffelbazillen Raum schafft. Das durch sie reichlich gebildete Ammoniak macht die Reaktion stark alkalisch. Das Mehl verfärbt sich dabei, wird schmierig und riecht widerlich faulig. Wird das Mehl in hohen Schichten zusammengestampft aufbewahrt, so verändert sich nur seine Oberfläche in der beschriebenen Weise, in der Tiefe bleibt der Prozeß bei der sauren Gärung stehen. Offenbar können die Kartoffelbakterien schon wegen des Sauerstoffmangels dort nicht gedeihen, aber wegen der sauren Reaktion auch nicht eiweißspaltende Anaërobier. Die an der Oberfläche hausenden Schimmelpilze würden zwar auch, wie in der Milch, allmählich die ganze Säure des Nährbodens verbrauchen, wenn seine Beschaffenheit nicht die freie Diffusion behinderte.

Eine ähnliche Verwesung, wenn auch im Sprachgebrauch gewöhnlich als „Fäulnis“ bezeichnet, ist die bekannte Zersetzung des Obstes, bei der es in eine matschige, bräunliche (vgl. S. 459) Masse verwandelt wird. Die Ursache sind ausschließlich Aërobier, und zwar Schimmelpilze²⁾: *Botrytis cinerea*, *Mucor stolonifer*, *Penicillium luteum* und *Oidium fructigenum*. Die Zersetzung der Kohlenhydrate (Pektinstoffe, Zucker, Säuren und Gerbstoffe) steht freilich dabei im Vordergrund, entsprechend der Zusammensetzung der Früchte.

Die Rolle der Schimmelpilze vertreten nach den Feststellungen Bails³⁾ bei der gewöhnlichen Verwesung der Pflanzenteile, die viel reicher an Kohlehydraten und ärmer an Stickstoff sind, als die eben besprochenen Nahrungsmittel, Hefepilze aus der Verwandtschaft der Krahmhefe (S. 248 u. § 149). Werden frische Blätter

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 535. Vgl. S. 525.

2) Vgl. Behrens, Zentr. Bakt. 2. Abt. 4, 1898.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 567 u. 9. 501 ff.

oder Stengel z. B. von Rhabarber in feuchter Umgebung vor zu starker Belichtung geschützt sich selbst überlassen, so verwandeln sie sich unter Umständen schon nach einer Woche in eine „feuchte, schmierige, dunkle, eigenartig modrig riechende Masse, innerhalb der nur gröbere Blätter eine größere Widerstandsfähigkeit zeigen“. Die ursprünglich saure Reaktion wird dabei allmählich eine alkalische, die Analyse zeigt Abnahme der stickstoffhaltigen Substanzen und lösungsfähigen Kohlenhydrate, während die Zellulose anscheinend nicht angegriffen wird. Aus der verwirrenden Masse von Mikroorganismen, die das zersetzte Gewebe bevölkern, gelang es B a i l durch Übertragung von Proben auf sterilisierte Rhabarberblätter diejenigen zu gewinnen, die augenscheinlich den Verwesungsprozeß bewerkstelligen. Zunächst findet sich in dem sauren Nährboden neben den erwähnten Hefepilzen wieder eine Art von recht säurebeständigen M i l c h s ä u r e b a k t e r i e n. Sie vergären offenbar einen Teil der Kohlehydrate und vermehren dadurch den Säuregehalt, die Hefe oxydiert ihrerseits die gebildete Säure. In diesem Wettstreit siegt zuletzt die Hefe, die Milchsäurebakterien verschwinden, die saure Reaktion nimmt soweit ab, daß auch andere Bakterien zum Wachstum gelangen können. Es sind hauptsächlich zwei Arten, in erster Linie kräftige Eiweißzersetzer, H e u b a z i l l e n. Unter ihrem Einfluß kommt die Verflüssigung der Pflanzengewebe, die alkalische Reaktion, zustande. Daneben findet sich recht regelmäßig ein anderer Bazillus, der viel weniger energisch sich an der Zersetzung beteiligt, aber den charakteristischen M o d e r g e r u c h erzeugt, Schimmelpilze können merkwürdigerweise vollständig fehlen und treten in jedem Falle hinter den Hefepilzen zurück¹⁾.

Wie sich die Zersetzung pflanzlicher Reste gestaltet, wenn der Sauerstoff nicht so reichlich Zutritt, hat B a i l nicht untersucht. Nach den Ergebnissen S a n t o r i s (S. 563) dürfen wir aber annehmen, daß dann die Flora sowie die äußeren Erscheinungen mehr denjenigen bei der echten Fäulnis ähneln kann. Doch wird das nur vorübergehend so sein, und sich bald das Übergewicht der Kohlenhydrate und ihrer Spaltungsstoffe durch ihre verschiedenen Gärungen, insbesondere auch die verschiedenen Sumpfgasvergärungen bemerkbar machen²⁾. Im

1) Ob diese Erfahrungen allgemein gültig sind, ist zweifelhaft. B e i j e r i n c k hebt die Allgegenwart eines Strahlenpilzes, der *Streptothrix chromogena*, im Humus hervor. Diese erzeugt moderähnlichen Geruch und dunkle Färbungen (vgl. S. 381). Über Zerstörung des Holzes durch zellulasebildende Schimmelpilze u. a. vgl. S. 397.

2) Vgl. die entsprechenden Abschnitte in diesem Buche, namentlich die Pektin- und Zellulosevergärung, ferner die Sumpfgasgärungen der Fettsäuren.

großen vollzieht sich der anaërobe Zersetzungsprozeß der Pflanzen bekanntlich in den Torfmooren. Die Bedeckung mit Wasser bedingt dabei den Sauerstoffabschluß. Über die Mikroorganismen, die bei dieser großartigen Verwesung oder Vermoderung die Hauptrolle spielen, ist nichts bekannt (vgl. § 118).

§ 183. Fäulnis und Verwesung im Boden und Wasser. Ebensowenig ist die Fäulnis und Verwesung der Leichen und anderer tierischer Stoffe im Erdboden bisher genügend bekannt, wenn man auch weiß, daß in den Anfangsstadien, abgesehen von der Harnstoff-, Hippursäure- usw. Vergärung (§ 191—195) die gewöhnlichen Erreger der stinkenden Fäulnis des Fleisches (*Proteus*¹), *Putrificus coli*²) u. a.), ferner auch Schimmelpilze³) und niedere Tiere (Fliegenlarven vgl. S. 562) beteiligt sind, und in den Endstadien der organische Stickstoff durch die sogenannten Nitrifikationsbakterien vollständig in Salpetersäure verwandelt wird, und der organische Kohlenstoff bis auf Reste von Humus zu Kohlensäure⁴), der organische Schwefel zu Schwefelsäure verbrannt erscheint (s. o. S. 557). Damit wird dann das erreicht, was man wohl als „Selbstreinigung des Bodens von seinen organischen Verunreinigungen“ bezeichnet hat. Die Zwischenstadien sind aber weit weniger gut bekannt und noch niemals ist z. B. die Leichenverwesung in ihrem ganzen Verlaufe mikrobiologisch verfolgt worden.

So sicher die wesentliche Rolle von Mikroorganismen bei diesen Vorgängen ist, so wenig ist zu leugnen, daß die Vollständigkeit der Zersetzung, die in Reagensglasversuchen nicht entfernt erreicht wird, erst durch die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Bodens selbst gewährleistet wird. Wir kommen gleich auf diese Verhältnisse zurück und bemerken hier nur, daß erfahrungsgemäß einerseits eine gewisse Wasserhaltigkeit des Bodens, andererseits aber auch ein nicht zu großer, die Durchlüftung verhindernder Wassergehalt dazu vonnöten ist. Der Humusrückstand selbst scheint, wo es sich um tierische Reste handelt, gering zu sein, ja, vielleicht ganz fehlen zu können, nimmt aber um so mehr an Ausdehnung zu, je mehr, wie in gewöhnlichem Dünger, pflanzliche Reste beigemischt sind.

1) K u h n a. a. O. (S. 563).

2) Identisch mit E. K l e i n s *Bac. cadaveris sporogenes* (s. o. S. 563). Weitere Angaben über Leichenbakterien folgen in der Infektionslehre.

3) Die Zersetzung des (gekochten) Fleisches durch Schimmelpilze allein bleibt nach den S. 532 Anm. 2 berichteten Untersuchungen B u t - j a g i n s sehr unvollständig.

4) Ob Sumpfgas regelmäßig daneben erzeugt wird und gasförmig in die Atmosphäre entweicht, ist zweifelhaft, auch eine Verbrennung im Boden ja möglich (S. 116).

Von der Leichenfäulnis völlig verschieden ist nebenbei bemerkt die **D a r m f ä u l n i s**, weil bei ihr diese gewöhnlichen Fäulnisbakterien, nämlich die Proteusbazillen und auch die strengen Anaërobier, obwohl sie immer vorhanden sind¹⁾ wahrscheinlich keine wesentliche Rolle spielen, vielmehr das Geschlecht des *B. coli* und *aërogenes* unter Mithilfe von echten Milchsäurestreptokokken und -bazillen sowie Zellulose vergärenden Bakterien die Zersetzung zu bewirken scheint. Erleichtert wird ihnen ihr Werk offenbar durch die Verdauungsenzyme des Darms. Andererseits wird das Endergebnis wohl erheblich durch die Aufsaugung der nährenden Flüssigkeit seitens der Schleimhaut beeinflusst, insofern sie eine starke Zusammendrängung der Bakterien und wahrscheinlich mittelbar dadurch eine kräftige Selbstverdauung derselben bedingt (§ 9). Näheres darüber werden wir erst in der Fortsetzung dieses Werkes (Infektionslehre) bringen. Hier nur die kurze Bemerkung, daß es trotz dieser Erkenntnis bisher nicht gelungen ist, die Darmfäulnis in allen ihren charakteristischen Erscheinungen im Reagensglas nachzuahmen. *Rettger* (s. o. S. 566) hat zwar im Gegensatz zu dieser unserer Darstellung auf Grund seiner Fäulnisversuche mit Fleisch-Eiermischungen gefolgert, daß Colibazillen nicht imstande seien, die Darmfäulnis zu verursachen, sondern wahrscheinlich nur Anaëroben, aber dabei unberücksichtigt gelassen, daß die Darmfäulnis sich von der gewöhnlichen doch ganz wesentlich unterscheidet. Die dafür charakteristischen Riechstoffe (Indol und Skatol) wurden ja auch nach seinen eigenen Versuchen nicht von Anaëroben erzeugt (vgl. S. 507 u. 541), sondern gerade von Colibazillen. Unseres Erachtens überschätzt man die Bedeutung der fäulniserregenden Anaëroben im Darme schon deswegen erheblich, weil sie nicht in genügend großen Mengen in ihm vorkommen.

Einen besonderen Fall der Fäulnis und Verwesung organischer Stoffe, nämlich die in den Abwässern des menschlichen Haushaltes und den damit verunreinigten natürlichen Gewässern vor sich gehenden „Selbstreinigungsvorgänge“ hat man ihrer praktischen Bedeutung halber viel untersucht. Es hat sich dabei gezeigt, daß zwar auch in den fließenden und stehenden Wässern selbst biologische Zersetzungen vor sich gehen, die zum Teil mit der Fäulnis und Verwesung²⁾ verglichen werden können, daß indessen viel lebhafter und darum für den Enderfolg viel wesentlicher

1) *Passini*, Zeitschr. f. Hyg. 49, 1905.

2) Wahrscheinlich ist die Verwesung der Hauptsache nach weniger durch Kleinwesen als durch höhere und niedere Pflanzen, die aber auch nur unter bestimmten Bedingungen zur Wirkung gelangen, bedingt (s. u.). Daneben besteht ein gewisser Einfluß der Lüftung (§ 184) und des Lichtes (§ 187).

sind diejenigen Veränderungen, die an den Schweb- und Sinkstoffen der Wässer vor sich gehen, und daß die Reinigung der Wässer selbst von den gelösten organischen Stoffen erst dann deutliche Fortschritte zu machen pflegt, wenn die Schweb- und Sinkstoffe durch Absetzen, Niederschlagen oder Filtrieren aus dem Wasser entfernt und das Wasser selbst wie bei der Berieselung und intermittierenden Filtration mit natürlichem Boden oder wie in den biologischen Filtern und bei dem Degener'schen Kohlebreiverfahren mit bodenähnlichen Körpern in Berührung kommt. Offenbar treten auch hier wieder nicht allein die bekannten biologischen Vorgänge, sondern physikalisch-chemische Einflüsse, die man als Oberflächenkräfte bezeichnen kann, ins Spiel. Wichtige Aufschlüsse darüber verdanken wir außer zahlreichen älteren Vorarbeiten namentlich den Untersuchungen Dunbars¹⁾. Nach ihnen besteht die Wirkung der genannten porösen Körper in erster Linie in einer Absorption der organischen (nicht bloß kolloidalen) Stoffe, die zwar von vornherein schon entwickelt, aber durch die fortgesetzte Berührung mit Abwasser sehr gesteigert wird. Durch sie werden die fäulnisfähigen Stoffe zum größten Teil dem Abwasser fast augenblicklich entzogen. Erst in den auf den Bodenteilchen sich bildenden Niederschlägen gehen dann die biologischen Veränderungen vor sich, die sehr verwickelter Art sind, aber das Hauptmerkmal an sich tragen, daß sie unter lebhaftester Beteiligung des Sauerstoffs, d. h. nur bei reichlicher Lüftung ungestört verlaufen. Einfache chemische Einflüsse durch gewisse Bodenbestandteile, z. B. Eisen und Mangan²⁾, wirken dabei wahrscheinlich insofern mit, als sie die Intensität der Oxydation steigern. Das Ergebnis der Selbstreinigung besteht darin, daß der gesamte organische Schwefel in dem Abfluß des Bodenfilters als Schwefelsäure wiedergefunden wird, der Stickstoff aber nur zu etwa 60—70%³⁾, und zwar teils als organischer Stickstoff, teils als Ammoniak, teils als Salpetersäure. Von dem Rest bleibt ein Teil als humöse Masse im Filter, ein anderer entweicht als elementarer Stickstoff. Der Kohlenstoff

1) Leitfaden für die Abwässerreinigungsfrage, 1907, S. 204 ff.

2) Vgl. hierzu und zu dem folgenden auch König, Grosse-Bohle und Romberg: Zeitschr. f. Untersuchung v. Nahrungs- und Genußmitteln 1900.

3) Kaum zu bezweifeln ist, daß der Prozentsatz der veränderten Stickstoff- wie Kohlenstoffsubstanz um so höher steigt, je mehr Zeit dem ganzen Vorgang gegönnt wird, also wohl unter den natürlichen Verhältnissen in gewachsenem Boden, manchmal auch schon auf Rieselfeldern und bei der Leichenverwesung fast 100% erreichen wird.

geht, soweit er verwandelt wird, zum größten Teil in *Kohlensäure*, die gasförmig oder gelöst entweicht, über, zum kleineren wieder in *Humus*, der im Filter zurückbleibt und seine Poren in kürzerer oder längerer Zeit je nach der größeren oder geringeren Schnelligkeit der Berieselung verstopft. Man wird sich vorstellen dürfen, daß die Eiweißkörper größtenteils in Aminosäuren und diese in Ammoniak, Schwefelwasserstoff und Fettsäuren gespalten werden, die letzteren wie die Kohlenhydrate durch den Sauerstoff zu Schwefel- und Kohlensäure, das Ammoniak zu Salpetersäure oxydiert werden, und ein Teil der Salpetersäure selbst wieder unter Reduktion zu Stickstoff zur Oxydation von Zucker, Fettsäuren u. dgl. dient (s. Denitrifikation § 198). An Bakterien, die das leisten können, fehlt es in den Bodenfiltern nicht, die eigentlichen Nitrobakterien werden nach *Dunbar* durch andere nitrifizierende unterstützt (S. 546). Die Entstehung des Humus bleibt nach wie vor dunkel, die pflanzlichen Reste tragen aber wahrscheinlich mehr dazu bei als die tierischen. Eine bakteriologische Analyse der im Filter wirkenden Keime, die es uns vielleicht ermöglichen würde, den natürlichen Reinigungsvorgang mit Hilfe von Rein-kulturen nachzumachen, fehlt bisher.

Ähnliche Verhältnisse wie in Böden und Filtern bestehen, wenigstens in gewisser Hinsicht, im *Schlamm*, der sich aus verunreinigten Oberflächenwässern oder ungemischtem Abwasser absetzt, weil hier immer bodenähnliche Bestandteile den organischen Stoffen beigemischt sind, und auch eine periodische Lüftung durch Auftrieb des Schlammes, Trockenlegung des Bodens u. dgl. erfolgt. Bei der „Schlammverzehrung“ beteiligen sich ferner überall da, wo die Luft genügend Zutritt hat, neben den Kleinwesen (Bakterien und Schimmelpilzen) niedere Tiere, namentlich aus der Klasse der Würmer in hervorragender Weise, wie das übrigens auch nach *Darwin's* Untersuchungen an Regenwürmern in der Gartenerde der Fall ist (S. 562). Die Bedeutung der Protozoen, höheren Pflanzen, Algen und Abwasserpilze (*Leptomit*us, *Sphaerotil*us, *Cladothrix*, *Beggiatoa* u. a. m.) für die Selbstreinigung des Bodens, Schlammes und Wassers, und besonders der schwimmenden Elemente (des „Planktons“) in letzterem scheint uns dagegen erheblich übertrieben worden zu sein, die der Protozoen, weil sie meist nicht in genügendem Maße auftreten, um ähnlich den anderen Tieren bei der Stoffverzehrung ins Gewicht zu fallen, die der übrigen drei Klassen, weil sie überhaupt nur gelöste Stoffe verzehren oder besser gesagt speichern und durch ihr früher oder später unvermeidliches Absterben den fäulnisfähigen Schlamm geradezu vermehren. In der Praxis der Wasser- und Abwasserreinigung macht sich dieser Übelstand oft genug bemerkbar, er würde noch deutlicher hervortreten, wenn man ihm nicht

durch periodisches Herausnehmen der pflanzlichen Wucherungen aus dem Wasser zuvorkäme, und dadurch einen Erfolg der Selbstreinigung nur künstlich vortäuschte. Aber auch die Verzehung der im Wasser selbst gelösten organischen Substanz durch die Pflanzen ist nur unter beschränkten Bedingungen von Wert, wenn nämlich das zu reinigende Wasser in dünner Schicht und sehr langsam fließt oder in Tümpeln und Teichen ganz stillsteht¹⁾).

Ein auf den ersten Blick sehr lehrreiches, weil dem Experiment zugängliches Beispiel für die Wirkungen der ohne Mithilfe des Bodens oder bodenähnlicher Körper vor sich gehenden Selbstreinigung bieten die sogenannten *Faulkammern*, die neuerdings vielfach mit den biologischen Filtern zur Abwasserreinigung benutzt werden. In ihnen werden große Mengen von organischem Schlamm verzehrt, d. h. in eine nicht mehr fäulnisfähige humusähnliche Masse verwandelt und außerdem auch ein gewisser Teil der gelösten organischen Stoffe des Abwassers zersetzt. Leider sind wir bisher aber über die dabei wirkenden Kräfte nur unvollkommen unterrichtet. Nach *Dunbars*²⁾ Darstellung sollen *aërobe* Schimmelpilze dabei eine größere Rolle spielen als *anaërobe* Bakterien, aber die Stoffzersetzung durch eigene Enzyme der pflanzlichen oder tierischen Abfallstoffe ganz bedeutend unterstützt werden. Während bei dem Faulverfahren die Selbstreinigung des Schlammes leidliche Erfolge zeitigt, ist die des daraus hervorgehenden Abwassers selbst bekanntlich durchaus ungenügend und läßt die Inanspruchnahme der reinigenden Kraft des Bodens oder der biologischen Filter nicht entbehrlich erscheinen.

§ 184. **Wirkung des Luftsauerstoffs auf die Fäulnis.** Es ist eine alte Erfahrung, daß Sauerstoffabschluß die stinkende Fäulnis begünstigt, reichliche Sauerstoffzufuhr sie verhindert oder hemmt.

1) Diese Andeutungen über die Selbstreinigung des Wassers müssen hier genügen. Einige weitere Angaben über den Einfluß physikalischer Bedingungen, wie der Bewegung, des Lichtes usw., folgen auf S. 579 ff. Über „Sauerstoffzehrung“ in verunreinigtem Wasser vgl. § 226. Für ein genaueres Studium ist das Werk von *Dunbar* sowie meine Arbeiten im Zentralbl. allgemein. für Gesundheitspflege und in der Zeitschrift für Hygiene 59 S. 39, 1908, zu empfehlen. Die Darstellungen der neuerdings sehr verbreiteten Planktonenthusiasten sind nur mit Vorsicht aufzunehmen. Von der chemischen Selbstreinigung, die wir hier allein im Auge haben, ist natürlich die bakteriologische, d. h. die Befreiung der Gewässer von den sie verunreinigenden Bakterien zu trennen. Die dabei wirksamen Kräfte sind mannigfacher Art. In erster Linie scheint es sich aber um freiwilliges Absterben wegen Nahrungsmangels zu handeln; die namentlich von *Emmerich* betonte phagozytäre Rolle der Protozoen erscheint mir nebensächlich (a. a. O. S. 61).

2) a. a. O. S. 116.

Die Erklärung dafür wird uns jetzt nicht schwer, seitdem wir wissen, daß es gerade die strengen oder fakultativen Anaërobier sind, die stinkende Fäulnis hervorrufen (§ 168 u. 169). Man hat die Bedeutung des Sauerstoffs für diese Art der Zersetzung dadurch abschwächen wollen, daß man auf diejenigen Bakterien (*B. proteus vulgaris* und *mirabilis*) hinwies, die auch an der Luft, d. h. ohne besondere Vorsichtsmaßregeln gegen den Zutritt des Sauerstoffs wachsen und die Eiweißstoffe trotzdem in stinkende Fäulnis versetzen. Manche Versuche (*B r i e g e r*) schienen auch zu lehren, daß selbst die künstliche Zuführung von Luft den Fäulnisvorgang eher beschleunige. Das würde sich mit der Theorie des anaëroben Wesens der Fäulnis noch vertragen. Wir sehen ja dasselbe bei der alkoholischen Gärung: obwohl auch diese ein Vorgang ist, der anaërob, d. h. ohne unmittelbare Beteiligung des Sauerstoffs verläuft, wird sie begünstigt durch mäßigen Luftzutritt, weil die Hefezellen zu ihrem Wachstum und zur reichlichen Bildung des Gärungsferments, der Zymase, des Sauerstoffs bedürfen (§ 91). Ebenso wächst augenscheinlich der *Proteus vulgaris* bei ungehindertem Luftzutritt schneller. Deswegen ist doch die Bildung der Stinkstoffe wie überhaupt die tiefere Spaltung der Eiweißkörper sehr wahrscheinlich ein wesentlich anaërober Vorgang. Ein mäßiger Zutritt von Luft zu einer faulenden Masse ist aber auch deswegen der Fäulnis noch nicht hinderlich, weil die darin stets vorhandenen luftliebenden Mikroorganismen den zugeführten Sauerstoff an sich reißen und so den strengen Anaërobiern doch ihre Tätigkeit ermöglichen. Schon *P a s t e u r* hat diese Erklärung gegeben (S. 106). Nach ihm fault z. B. eine o f f e n hingestellte stickstoffreiche Flüssigkeit, weil die Aërobier den in der Flüssigkeit vorhandenen Sauerstoff verzehren und an der Oberfläche eine Decke bilden, die gegen das Eindringen neuen Luftsauerstoffs schützt. Selbst ein langsames Durchleiten von Luft braucht die Anaërobier noch nicht zu hemmen. Sobald dagegen sehr reichliche Luftmengen durch die Flüssigkeit geleitet werden, ist das Wachstum der Anaëroben nicht mehr gut möglich, und die stinkende Fäulnis tritt nicht ein.

Schwerer faulende Flüssigkeiten, z. B. Kanalwasser, verunreinigtes Flußwasser, die weniger Stickstoff enthalten, muß man schon in hohen Schichten und womöglich in geschlossenen Gefäßen aufspeichern, um Fäulnis zu erzielen. Schon die schwache Lüftung, die mit einer fortschreitenden Strömung des Wassers verbunden ist, kann hier das Auftreten übler Gerüche verhindern. Stärkere Lüftung solcher Wässer, z. B. das Rieseln über Drahtnetze, die Verteilung durch Sprühapparate, das Durchleiten von viel Luft beseitigt unter Umständen¹⁾ nicht nur

1) Vgl. *K ö n i g*, Verunreinigung der Gewässer, Berlin 1899. 1. Bd. S. 235 (mit Literatur).

die etwa vorhandenen Gerüche, sondern macht sie überhaupt fäulnisunfähig. Eine unmittelbare Oxydation der Faulstoffe durch den Sauerstoff der Luft tritt dabei höchstens in unbedeutendem Grade, z. B. beim S c h w e f e l w a s s e r s t o f f, oder in längeren Zeiträumen ein. Die Wirkung der Lüftung hat man sich vielmehr, wenn man von dem für den augenblicklichen Erfolg maßgebenden Einfluß, der mechanischen Beseitigung der Riechstoffe durch A b d u n s t u n g absieht, so zu erklären, daß die Anaërobier durch den Sauerstoff geschwächt oder abgetötet und die Aërobier unterstützt werden.

Auf die Tatsache, daß die Zersetzung der stickstoffhaltigen Substanzen unter Sauerstoffabschluß, die wir Fäulnis nennen, nicht eine so vollständige ist, als die „Verwesung“ bei Luftzutritt, haben wir schon öfters hingewiesen (vgl. S. 561). Da ja aber unter natürlichen Verhältnissen, d. h. im Erdboden die Anaërobiose sich weniger umfassend und nur vorübergehend verwirklicht, ist das kein Nachteil für das Endziel der Zersetzung, die Umwandlung der toten organischen Stoffe in ihre letzten Bestandteile.

§ 185. Einfluß der Reaktion auf Fäulnis und Verwesung. Freie Säure im Nährboden hindert die Fäulnis, sich zu entwickeln und unterbricht den begonnenen Prozeß. Das ist eine alte Erfahrung, die auch in der Küche und in den Nahrungsmittelgewerben verwertet wird: in Essig eingelegt, „mariniert“, lassen sich Fleisch und Fisch länger aufbewahren. Nach Tissier und Martelly¹⁾ genügt z. B. 1⁰/₀₀ Schwefelsäure oder eine äquivalente Menge anderer Säuren, um Fleisch vor Fäulnis zu bewahren; 0,5⁰/₀₀ verzögert die Fäulnis um 14 Tage. Genau genommen ist die Säurekonzentration in diesen Fällen eine höhere, weil der Säuregehalt des Fleisches selbst (etwa 1,2⁰/₀₀) hinzugerechnet werden muß. Die Erklärung für diesen Einfluß der sauren Reaktion liegt darin, daß dadurch nicht nur die proteolytischen Enzyme (§ 165) ihre Wirksamkeit einbüßen, sondern auch schon das Wachstum der Fäulnisbakterien gehemmt wird, oder diese so geschwächt werden, daß sie kein Enzym ausscheiden (§ 41). Wo genügende Säuremengen noch nicht im Nährboden enthalten sind, um schädlich zu wirken, werden sie leicht entwickelt durch s a u r e G ä r u n g e n v o n K o h l e h y d r a t e n. Darauf beruht der hemmende Einfluß dieser Stoffe auf die Fäulnis, dem wir schon öfter begegnet sind, und auf den wir noch zurückkommen werden (§ 186). Milchsäure- und Buttersäurebakterien sind in der Gesellschaft der Fäulnisbakterien überall verbreitet, sie überwuchern die letzteren ohne Mühe, wo sie zusagende Nahrung finden.

1) Annal. Pasteur 1902. 901.

Nicht gehemmt selbst durch viel Säure werden die genannten Säurebakterien, ferner Hefe- und namentlich Schimmelpilze. Da die letzteren bei genügendem Sauerstoffzutritt auch das Eiweiß stark angreifen, wird unter solchen Umständen durch die Säure nicht jede Eiweißzersetzung gehemmt, sondern nur die Fäulnis: die Verwesung kann dann um so schneller Fortschritte machen: das Verschimmeln von sauren Nahrungsmitteln, die Fäulnis des Obstes ist weiter nichts als solche Verwesung (§ 181 u. 182). Das Schimmelpilzwachstum ist allerdings gewöhnlich ein begrenztes, es setzt sich selbst ein Ziel dadurch, daß die Pilze die organischen Säuren verbrennen und die saure Reaktion auch durch Ammoniakbildung aus dem Eiweiß herabsetzen. Ist das geschehen, so können die Bakterien wieder aufkommen: Fäulnis löst dann die Verwesung wieder ab. Nur in dem Fall behalten die Schimmelpilze länger das Feld, wenn der Wassergehalt des Nährbodens ein so geringer ist, daß die Bakterien nicht mehr dabei gedeihen (§ 40).

Die hemmende Wirkung der Säure auf die Fäulnis kann natürlich nicht eintreten, wenn sie nachträglich oder gleich bei ihrer Bildung neutralisiert wird, also z. B. wenn Kreide (kohlensaurer Kalk) reichlich und genügend fein verteilt im Nährboden vorhanden ist.

Der Einfluß alkalischer Reaktion macht sich im entgegengesetzten Sinne bemerkbar wie der der Säuren. Die Fäulnis von Fleisch wird z. B. befördert durch Zusatz von Soda, die hier wirkt wie kohlensaurer Kalk, indem die vorgebildete oder aus den Flüssigkeiten erst entwickelte Säure dadurch neutralisiert wird. Auch wo keine Säure zu neutralisieren ist, hat der Alkaligehalt des Nährbodens eine gewisse Bedeutung für den Verlauf der Fäulnis, insofern nach *Blumenthal*¹⁾ sich zwar — innerhalb gewisser Grenzen — die Intensität der Zersetzung nicht wesentlich ändert, aber die Menge der einzelnen Zersetzungsprodukte schwankt: Ein Zuviel von Alkali kann z. B. die Schwefelwasserstoffbildung völlig hindern und die Meraptan- und Indolbildung sehr herabsetzen, erhöht aber andererseits die Säureausbeute.

Ebenso wie Kohlehydrate die saure Reaktion, so befördern Harnstoff und andere leicht in Ammoniak zerfallende Körper die alkalische Reaktion der Faulflüssigkeiten. In Mist und Jauche ist das besonders der Fall. Dadurch kann die Alkalinität so hoch ansteigen, daß, obwohl immer ein Teil des Ammoniaks durch Verdunstung entfernt wird, die Fäulnis früh zum Stillstand kommt. Beides, die Hemmung der Zersetzung wie die Verdunstung des Ammoniaks, ist für die land-

1) Zeitschr. f. klin. Med. 28. 240, 1895.

wirtschaftliche Ausnutzung der Dungstoffe vom Übel, ein Hilfsmittel dagegen aber in der Verwendung von ammoniakbindenden Stoffen, wie Schwefelsäure, Superphosphat und namentlich Gips¹⁾ (dem schwefelsauren Kalk), der sich mit dem Ammoniak zu schwefelsaurem Ammoniak und Kohlensäurem Kalk umsetzt, gegeben.

§ 186. **Einfluß gewisser Stoffe auf die Fäulnis.** Es ist eine lange bekannte Tatsache, daß Milch, trotz ihrem hohen Eiweißgehalt, sehr wenig zur Fäulnis neigt, ja, andere fäulnisfähige Stoffe, wie Fleisch, gegen Fäulnis zu schützen vermag. *Hirschler*²⁾ stellte dann fest, daß der Gehalt der Milch an Zucker daran schuld wäre, und daß der Milchzucker mit dem gleichen Erfolge durch andere Kohlenhydrate, wie Dextrin, Rohrzucker und selbst durch Glyzerin ersetzt werden könnte. Gleichzeitig glaubte er aber nachweisen zu können, daß die bei der Vergärung jener Substanzen entstandenen Säuren (s. o. § 185) nicht schuld an der Hemmung der Fäulnis sein könnten, weil Zusatz von Kohlensäurem Kalk die Wirkung nicht aufhöbe. Auch *Winternitz*³⁾ und *Seelig*⁴⁾ kamen zu demselben Schluß und schrieben daher dem Zucker, insbesondere dem Milchzucker, einen spezifischen Einfluß zu. Auch im Darm soll diese fäulniswidrige Eigenschaft des Milchzuckers zu beobachten sein, wie die bekannten Erfahrungen an Säuglingsstühlen und Ernährungsversuche von Erwachsenen mit Milch- und Kefyrdiät lehrten⁵⁾. Gegen diese Erklärung sprach allerdings schon die Entdeckung *Flügges*⁶⁾, daß es Anaërobier gibt, die sterilisierte Milch in stinkende Fäulnis versetzen. Dann erhielt *Bienstock*⁷⁾ denselben Befund mit dem gewöhnlichen Fäulnis-erreger, dem *Bac. putrificus*, und den Bazillen des malignen Ödems und Rauschbrandes, während die Fäulnis durch diese Bakterien nicht hervorgerufen wurde, wenn sie in unsterilisierte Milch übertragen wurden. Ein näheres Studium ergab weiter, daß die Milchsäurebakterien oder andere Mikroorganismen, die wie diese den Milchzucker vergären (*B. coli* und *aërogenes*), es sind, die das Aufkommen der Fäulnis verhindern. Nach der Ansicht *Bienstocks* spielen die Hauptrolle dabei die bei der Gärung entwickelten Säuremengen. Zugabe von

1) *Severin*, Zentr. Bakt. 2. Abt. 11, 389, 1904.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 10, 1886.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. 16, 1892.

4) Virch. Arch. 146, 1896.

5) *Rovighi*, Zeitschr. physiol. Chem. 16, 1892. Neuerdings wird von *Metschnikoff* besonders der Yoghurt bzw. dessen Säurebildner, der *Bac. bulgaricus* (Lit. S. 288 Anm. 2), zur Bekämpfung der Darmfäulnis empfohlen (vgl. auch Infektionslehre).

6) Zeitschr. f. Hyg. 17, 1894.

7) Arch. f. Hyg. 49, 1901.

kohlensaurem Kalk beseitige die Hemmung, wenn man ihn nur öfter mit der Nährflüssigkeit verrühre. Es sollen aber daneben noch andere Stoffwechselprodukte der genannten Bakterien in Betracht kommen, die deswegen als Antagonisten der Fäulniserreger zu bezeichnen wären. Nach dem, was wir auf S. 575 und 565 über die Erfahrungen von T i s s i e r, M a r t e l l y und G a s c h i n g mitgeteilt, ist diese Annahme wohl überflüssig. Die Säurewirkung allein erklärt alle Erscheinungen genügend.

Was von der stinkenden Fäulnis gilt, scheint, wie wir S. 511 und 539 sahen, auch von der Bildung des Indols und anderer Spaltungsprodukte des Eiweißes in Reinkulturen des *B. proteus* und *coli* zu gelten. Bei Gegenwart von gärfähigem Zucker fällt die Indolreaktion aus, doch muß nach T i s s i e r und M a r t e l l y in einer 1 prozentigen Peptonlösung mindestens 0,2% Zucker vorhanden sein, wenn das Indol dauernd fehlen soll. Das entspricht auch den eigenen Erfahrungen des Verfassers¹⁾.

Wenn die Fäulniserreger durch die Kohlenhydrate und Säuren in ihrer Tätigkeit beeinträchtigt werden, so werden die Verwesungserreger, wie Schimmelpilze, Hefe usw., im Gegenteil gefördert. So erklärt sich die oft hervorgehobene Tatsache, sehr einfach, daß a n i m a l i s c h e S t o f f e viel mehr zur F ä u l n i s, v e g e t a b i l i s c h e zur V e r w e s u n g n e i g e n.

Von dem Einfluß des H a r n s t o f f s auf die Fäulnis haben wir schon S. 576 gesprochen. Dadurch, daß viele Mikroorganismen ihn in kohlensaures Ammon verwandeln, wird die alkalische Reaktion des Nährbodens erhöht, die Zersetzung unter Umständen gehemmt.

Die Anwesenheit von s a l p e t e r s a u r e n S a l z e n in Faulflüssigkeiten hat keine nachweisbare Wirkung auf den Faulprozeß selbst, wohl aber auf die Zusammensetzung der Gase, die dabei entwickelt werden. Die Salpetersäure verfällt nämlich durch die Wirkung von zahlreichen im Kot, Erdboden usw. vorkommenden Bakterien einer Reduktion zu salpetriger Säure und schließlich zu freiem Stickstoff (§ 198). Wo aus Fäulnisgemischen dieses Gas entwickelt wird, hat man daher auf Salpetersäure zu fahnden, eine andere Entstehungsweise ist wohl nur ausnahmsweise anzunehmen (S. 525).

Auf der anderen Seite können bei reichlichem Sauerstoffzutritt aus dem Ammoniak des verwandelten Eiweißes Nitrite und Nitrate gebildet werden. Die Nitrifikation verlangt im allgemeinen aber eine an organischen Substanzen so arme Nährlösung, daß sie erst beginnen kann, wenn die verwesenden Stoffe eine solche Verdünnung erfahren

1) K r u s e, Zeitschr. f. Hyg. 17. 48, 1894. Vgl. auch das beim Colibazillus (§ 174) Gesagte.

haben, daß der Verwesungsprozeß praktisch zum Stillstand gekommen ist. Im Erdboden und in Filtern scheinen allerdings die Dinge für die Nitrifikation günstiger zu liegen als in unseren Nährlösungen (§ 196).

Die Dichtigkeit der Nährstoffe ist auch sonst für den Verlauf der Zersetzung von Bedeutung. Nach Hiller¹⁾ bewirkt z. B. die einfache Verdünnung im scheinbar ganz ausgefaulten Fleischaufluß mit Wasser eine Wiederholung der Fäulnis. Sie erklärt sich wohl dadurch, daß in der verdünnten Flüssigkeit die alten Mikroorganismen teilweise wieder bessere Existenzbedingungen vorfinden, weil sie nicht mehr durch ihre schädlichen Stoffwechsel gehemmt werden, teils neue Formen sich entwickeln, die vorher nicht aufkommen konnten. Die Eindickung des Nährbodens wird unter Umständen eine ähnliche Wirkung haben. Es findet dabei einerseits eine Verdunstung schädlicher Stoffe (Ammoniak, Indol) statt, andererseits wird der Wassergehalt und dadurch die Nährfähigkeit verändert. Geht er unter eine gewisse Grenze, so ist das Wachstum von Bakterien nicht mehr möglich, und Schimmelpilze lösen jene ab. Wird daher künstlich eine Substanz so weit vom Wasser befreit, so wird sie dadurch gegen die Fäulnis durch Bakterien geschützt und unterliegt nur noch der Gefahr des Verschimmeln. Entfernung des Wassers bis auf 10 bis 15% oder oberflächliche Austrocknung beseitigt auch diese (§ 40).

Viele natürliche Flüssigkeiten, wie Blut, Serum und Eiter, sind schon so konzentriert, daß sie nur langsam sich zersetzen. Werden sie mit Wasser verdünnt, so geraten sie viel schneller in Fäulnis. Wie der hohe Eiweißgehalt für tierische, so wirkt der hohe Zuckergehalt für pflanzliche Stoffe als Schutz gegen Fäulnis. Künstlich vermehrt man den letzteren bei der Konservierung (dem sog. Einmachen) der Früchte. Durch Einsalzen (Pökeln) erreicht man dasselbe Ziel beim Fleisch (a. a. O.).

§ 187. Einfluß physikalischer Bedingungen auf Fäulnis und Verwesung. In erster Linie kommt von den physikalischen Einflüssen die Wärme in Betracht. Wie für die meisten biologischen Erscheinungen bilden Temperaturen von 5—40° C die Grenzen, innerhalb deren die Fäulnis regelmäßig verläuft. Annäherungen an den Gefrierpunkt heben die Zersetzung völlig auf, ebenso Erhitzung auf 60° und mehr (§ 42).

Der Einfluß des Lichtes ist insofern unverkennbar, als er die Wucherung chlorophyllhaltiger Pflanzen begünstigt und die der nicht chlorophyllhaltigen bei einer gewissen Intensität hemmt (§ 45). Mittelbar werden dadurch natürlich auch die chemischen Vorgänge

1) Lehre von der Fäulnis 1879, S. 455.

beeinflusst. Unter natürlichen Bedingungen, wo höchstens eine periodische oder sehr ungleiche Belichtung zur Geltung kommt, wird man die Bedeutung des Lichtes nicht überschätzen dürfen. Die „bakteriologische Selbstreinigung“ des Wassers ist daher nur zum kleinsten Teil auf die Belichtung zurückzuführen, wenn letztere auch ebenso wie bei der chemischen Selbstreinigung eine gewisse Rolle spielt¹⁾. Das Licht erzeugt ja antiseptische Stoffe wie H_2O_2 (S. 154).

Einen großen Einfluß auf die Verhütung der Fäulnis hat man auch der Bewegung zuschreiben wollen. Ruhende Flüssigkeiten sollen schneller faulen als strömende, Fleisch in ruhender Luft schneller als in bewegter. Die Tatsachen sind nicht zu bezweifeln, die fäulnishemmende Wirkung des Sauerstoffs, also die Lüftung, hat aber jedenfalls einen wesentlichen Anteil an dem Erfolg (§ 184), daneben kommt für das zweite Beispiel Abkühlung und Eintrocknung der Oberfläche durch Luftströme als ein der Zersetzung hinderlicher Vorgang, für das erste Beispiel Absetzen und Anhäufung der Sinkstoffe als ein ebenso förderlicher in Betracht. In unseren Wasserläufen läßt sich der üble Einfluß der „Stagnation“ oft beobachten. Da, wo die Strömung eine kräftige ist, hat die Einleitung von Schmutzwässern anscheinend — d. h. für den Geruchssinn — keine schädlichen Folgen, wo sie sich verlangsamt, setzen sich dagegen die in den Schmutzwässern schwebenden fäulnisfähigen Körper als Schlamm zu Boden, und der Schlamm gerät dann namentlich im Sommer in Fäulnis²⁾. Eigentümlicher Art scheint zunächst die „Fäulnis“, die ein verhältnismäßig reines Wasser, z. B. in Zisternen, Behältern, Talsperren durchmacht, wenn es in Ruhe verharrt. Wahrscheinlich hängt aber auch sie zum Teil von der Anwesenheit fäulnisfähiger Bodensätze in solchen Wässern ab, die unter günstigen Bedingungen, z. B. beim Steigen der Temperatur, in wirkliche Fäulnis übergehen. Aber auch die löslichen Bestandteile des Wassers und namentlich des Untergrundes sind dabei von Bedeutung. So tritt die „Wasserverderbnis des Hochsommers“ gewöhnlich nur in solchen Talsperren ein, die so flach sind, daß sie Pflanzenwuchs gestatten, oder deren Boden nicht genügend von organischen Resten gereinigt ist, oder die schmutzige (nitrathaltige?) Zuflüsse empfangen. Sie macht das Wasser gelb bis braun, übelriechend (nach Schwefelwasserstoff) und eisenhaltig. Eine ausreichende mikrobiologische Untersuchung der Veränderung fehlt. Auffallend ist aber der ver-

1) Vgl. Kruse, Zeitschr. Hyg. 17. 30, 1894 u. 59. 60—62, 1908; Zentr. allgem. Gesundheitspflege 1899. 37.

2) Vgl. darüber besonders die letztgenannte Arbeit.

hältnismäßig geringe Gehalt an züchtbaren Bakterien¹⁾. Vielleicht spielen nicht die gewöhnlichen (s. u.), sondern eigentümliche sulfatreduzierende Mikroben, die in der Tiefe der Wasserbecken unter Umständen zur Wucherung gelangen, dabei die Hauptrolle (§ 212).

Auf der anderen Seite ist nämlich die Ruhe für die bakteriologische Selbstreinigung des Wassers von der allergrößten Bedeutung²⁾. Sie bewirkt z. B., daß das Wasser der Talsperren sich von züchtbaren Keimen, die es beim Eintritt in dieselben reichlich enthält, im Laufe von wenigen Wochen fast völlig befreit, während die Keimzahl in einem durch Kanalwasser verunreinigten, schnell fließenden Strome sich Hunderte von Kilometern unterhalb noch ziemlich unverändert erhält. Der Grund dafür liegt wohl im wesentlichen darin, daß der Nahrungsmangel im Wasser im ersten Falle die Keime abtötet, weil er viel länger einwirkt, als im zweiten. Daher fehlt die Selbstreinigung auch in eigentlichen Schmutzwässern, die genug Nahrung für alle möglichen Kleinwesen enthalten. Bemerkwert ist, daß die Keimarmut, also die bakteriologische Selbstreinigung namentlich in den oberen Schichten eines Staubeckens mit der obenerwähnten chemischen Wasserverderbnis, die in den unteren Schichten am stärksten ausgesprochen ist, Hand in Hand gehen kann. Gerade das gibt uns ein Recht, die letztere als einen Vorgang besonderer Art zu betrachten.

Sehr wichtig ist, wie wir schon früher bemerkten (S. 571), der Einfluß des natürlichen Bodens oder künstlicher Filter auf die Zersetzungsvorgänge. Bekanntlich wird durch Vermengung mit Erde, namentlich mit humushaltiger, stinkende Fäulnis schnell zum Stillstand gebracht. Der üble Geruch verschwindet sogar augenblicklich. Diese Wirkung hat man von jeher durch Flächenanziehung, wie sie allen porösen Körpern eigen ist, die sog. Adsorption oder Absorption der Gase und gelösten Stoffe erklärt. Doch ist damit die Wirkung noch nicht abgeschlossen. Die absorbierten Stoffe werden zersetzt, und zwar, wie es bei der durchlässigen Natur der Unterlage nicht anders möglich ist, in erster Linie unter Beteiligung des Luftsaauerstoffs, also durch Oxydation, oder wie man auch, dem Sprachgebrauch folgend, sagen kann, durch Verwesung.

Die poröse Beschaffenheit des Erdbodens ist augenscheinlich nicht bloß von Wichtigkeit, weil sie die Absorption und Oxydation der orga-

1) Vgl. Kruse, Zentrbl. allgem. Gesundheitspfl. 1901. 145 und Zeitschr. Hyg. 59, 56, 1908.

2) S. meine eben angeführten Arbeiten. Die Bedeutung der Pflanzen und Protozoen für die Selbstreinigung wird u. E. überschätzt (vgl. S. 573).

nischen Substanzen durch Flächenwirkung und Luftgehalt ermöglicht, sondern sie wirkt auch dadurch, daß sie die zu den Zersetzungen nötige Feuchtigkeit einerseits festhält, andererseits in gewissen Grenzen die Zirkulation der Flüssigkeiten und damit eine Verteilung der Nährstoffe, Veränderungen der Konzentration und Reaktion und durch die verschiedene Fällung mit Wasser sogar einen periodischen Wechsel zwischen Aërobiose und Anaërobiose herbeiführt. Es ergibt sich daraus eine **M a n n i g f a l t i g k e i t v o n L e b e n s b e d i n g u n g e n** im Erdboden, welche wesentlich die Vollständigkeit der Zersetzung, die Erreichung des Endziels, die **v o l l s t ä n d i g e M i n e r a l i s i e r u n g d e r o r g a n i s c h e n S u b s t a n z** bewirkt.

Nebenbei bemerkt sei, daß **O b e r f l ä c h e n w i r k u n g e n** auch von wesentlicher Bedeutung sind für die Leistungen der sog. Bakterienfilter. Wahrscheinlich ist das schon für die sehr feinporigen Kieselgur-, Porzellanfilter u. dgl., ganz sicher aber für die gewöhnlichen zur Wasserfiltration benutzten Sandfilter, deren Poren viel zu groß sind, um Keime an sich zurückzuhalten, und die trotzdem, besonders nach ihrer Verschleimung durch längere Benutzung, aber auch schon ohne diese dazu fähig sind. Die Verschleimung bewirkt übrigens, daß selbst große Wasserleitungsröhren die Keimzahl des sie durchfließenden Wassers herabsetzen¹⁾.

§ 188. **Fäulnis und Krankheit.** Die Fäulnis verändert nicht bloß die tote organische Substanz, sondern sie hat auch mannigfache Beziehungen zur lebenden Welt, sie verursacht unter Umständen Krankheit und Tod. Die Überzeugung, daß dem so sei, ist eine sehr alte, ihre Geschichte zu verfolgen wird Aufgabe der „Infektionslehre“ sein. Wir wollen nur in Kürze die Beziehungen feststellen, die tatsächlich zwischen Fäulnis und Krankheit bestehen.

Können Organismen bei lebendigem Leibe verfaulen? Für bestimmte Bedingungen kann man diese Frage bejahen. Man kann zunächst an lebenden **P f l a n z e n** oder Pflanzenteilen (Knollen, Früchten) sogar durch Einimpfung gewöhnlicher „saprophytischer“ Bakterien (*Bac. fluorescens liquefaciens*, *mesentericus*, *coli*) Zerfallsprozesse erzeugen, die der Fäulnis abgestorbener Substanzen sehr ähnlich sind (§ 356). Dazu sind aber gewöhnlich große Mengen der Fäulniserreger nötig, ferner müssen die Pflanzen verwundet werden und auch durch andere schädigende Einflüsse in ihrer Widerstandskraft geschwächt sein. Doch kommen auch in der Natur derartige Krankheiten vor. Auch bei **n i e d e r e n T i e r e n** gelingen ähnliche Infektionen mit Fäulniserregern manchmal ziemlich leicht. So konnte

1) Vgl. **K r u s e**, Zeitschr. Hyg. 59. 64 und 70 ff., 1908.

Filato ff¹⁾ Küchenschaben durch Einverleibung aller möglichen Saprophyten töten. Eine natürliche Krankheit, die Faulbrut der Bienen, soll nach Lambotte²⁾ durch den gewöhnlichen Kartoffelbazillus (*Bac. mesentericus*) verursacht werden. Bei den Warmblütern beobachtet man echte und stinkende Fäulnis an ganzen Gliedern und Organen (sog. Gangrän) nicht selten. Doch ist die gewöhnliche Vorbedingung dafür, daß die betreffenden Körperteile schon vorher (z. B. durch Verstopfung der Blutgefäße) abgestorben oder zum mindesten sehr in ihrer Lebensfähigkeit geschwächt und durch mechanische Einflüsse geschädigt sind, wie bei dem Dekubitus (dem „Durchliegen“ oder „Druckbrand“), der stark in ihren Kräften herabgekommene Kranke heimsucht. Das Zusammenwirken einer großen Zahl von Saprophyten befördert derartige Prozesse, daher sie denn auch bei unreinlich gehaltenen Kranken viel leichter eintreten. Die große Menge von Keimen ist es auch, die von verunreinigten Wunden aus gelegentlich einen fortschreitenden Fäulnisprozeß, den sog. Gasbrand, erzeugt. Doch steht der Erreger, der *Bac. emphysematicus* (oder *perfringens*), anderen anaëroben spezifischen Infektionserregern, dem Bazillus des Rauschbrands, malignen Ödems und Tetanus schon näher als den gewöhnlichen Fäulnisanaëroben (vgl. § 113 u. 168). Nicht zufällig ist es, daß sich zu eigentlichen Infektionsprozessen häufig genug sekundäre Fäulniserreger³⁾ gesellen und dadurch putride Eiterungen verursachen: offenbar wird das lebende Gewebe erst durch die Infektion für die Wirkung der Saprophyten vorbereitet. Soviel ist sicher, daß die lebenden und gesunden Gewebe der höheren Tiere den Fäulniserregern im allgemeinen einen erfolgreichen Widerstand entgegensetzen, und daß diejenigen Mikroorganismen, denen gegenüber dieser Widerstand versagt — die Infektionserreger — nicht eine Auflösung der organischen Substanz erzeugen, die mit der Fäulnis auf eine Stufe zu stellen ist, sondern nur durch besondere Stoffe Veränderungen der Gewebe und so unter eigener Vermehrung Krankheiten und Tod ihres Wirtes verur-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 2025, 1904.

2) Annal. Pasteur 1902. Nach Maassen, Art. biol. Abteil. Gesundheitsamt 6, 1908, handelt es sich allerdings um eine besondere Bakterie, den *Bac. Brandenburgensis*. Andere Erreger sind der *Bac. alvei* und *Streptococcus apis* (auch von Burri gefunden).

3) Dazu gehören namentlich die Anaërobier von Veillon und Zuber (Arch. méd. expér. 1898) und Rist (Zentr. Bakt. 30. 7). Nur teilweise stimmen sie mit den bekannten Fäulniserregern überein.

sachen¹⁾. Bei niederen Tieren und namentlich bei Pflanzen ist diese Trennung zwischen Infektions- und Fäulniserregern lange nicht so scharf ausgesprochen.

Der Unterschied zwischen den Erscheinungen der Fäulnis und Infektion war vor 30—40 Jahren noch nicht so sicher erkannt. Man glaubte sogar sehr allgemein, die Erreger beider Prozesse miteinander identifizieren oder wenigstens in engste genetische Beziehung setzen zu müssen, ob man nun die Existenz organischer Erreger oder rein chemischer Ursachen (Miasmen, Kontaktstoffe) annahm. Der Name Sepsis, Septizämie, „Faulfieber“, ist bezeichnend genug. Die Entwicklung der Bakteriologie hat diesen Irrtum aufgeklärt. Wir wissen allerdings, daß echte Infektionserreger, z. B. die Bazillen der Mäuseseptizämie, Kaninchenseptizämie und auch pathogene Kokken (R. Koch) in faulendem Material vorkommen können. Doch sind das mehr zufällige Befunde oder Ausnahmen. Das Feld ihres Vorkommens ist im allgemeinen ein durchaus verschiedenes. Man kann sogar den Antagonismus zwischen Fäulnis und Infektion, für den besonders Nägeli²⁾ stritt, nicht leugnen. In faulenden Stoffen gehen Infektionserreger gewöhnlich schnell zugrunde, verlieren z. B. in verwesenden Kadavern bald ihre Infektionsfähigkeit³⁾. Dadurch wird die Abstammungsfrage natürlich nicht berührt; es ist vielmehr wahrscheinlich, daß die Infektionserreger sich stammesgeschichtlich aus eiweißzersetzenden Arten entwickelt haben (§ 356 ff. u. 359), die Anpassung an eiweißhaltige Nährböden ist ja selbstverständliche Voraussetzung für ihre Fähigkeit, im lebenden Körper zu wachsen. Bei den pathogenen Anaëroben liegt die Verwandtschaft mit den nicht pathogenen übrigens auf der Hand.

Abgesehen von den oben beschriebenen Fällen, in denen die Saprophyten im lebenden Organismus wachsen und dabei wie auf totem Nährboden Fäulnis erregen, könnten sie noch, ohne im Körper zu wachsen, durch von ihnen gebildeten Stoffe schädlich wirken. Möglich ist das allerdings, wie die zahlreichen im vorigen Jahrhundert ausgeführten Einspritzungen von Faulflüssigkeiten in das Blut oder unter die Haut von Tieren beweisen⁴⁾. Häufig genug kann man frei-

1) Vgl. § 51 und Kap. XVI u. XVII.

2) Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten und der Gesundheitspflege. München 1877.

3) Vgl. z. B. bei E. Klein, Zentr. Bakt. 25, Lösenner, Arb. Gesundheitsamt 12, 1899.

4) S. ausführliche Besprechung bei Hiller, Lehre von der Fäulnis, 1879 und § 259.

lich bei den Versuchen im Zweifel sein, ob die schädliche Wirkung von lebenden Mikroorganismen oder von gelösten Substanzen verursacht wurde. In vielen Fällen waren es aber sicher letztere, die Gifte der Fäulnisbakterien. Über die chemische Beschaffenheit dieser Stoffe, auf die wir in Kap. XVI genauer eingehen werden, weiß man bisher trotz vieler darauf gerichteter Untersuchungen recht wenig. Die von B r i e g e r rein dargestellten Fäulnisalkaloide oder Ptomaine kommen wohl für die Giftwirkung nur nebenher in Betracht (§ 259). Alles deutet vielmehr darauf hin, daß die Gifte verwickelter gebaute Stoffe sind. Haben nun aber die Einspritzungsversuche überhaupt eine praktische Bedeutung, beweisen sie, daß die chemischen Produkte der Fäulnis unter den natürlichen Resorptionsbedingungen für Mensch und Tier schädlich sind? Nur in beschränktem Maße kann das zugegeben werden, nämlich für die Fälle von Wundfäulnis, Gangrän usw. Man kann da vielleicht von „putrider Intoxikation“ sprechen, obwohl die Wirkung der Fäulnisprodukte und der gleichzeitig vorhandenen echten Infektionserreger schwer zu trennen ist, und die letztere gewöhnlich überwiegt.

Öfter hat man es mit der Aufnahme von Fäulnisstoffen durch den Verdauungskanal zu tun, der freilich allem Anschein nach gegen schädliche Giftwirkungen von dieser Art ziemlich gefeit ist. Auf die Aasvögel und Raubtiere, die von faulenden Kadavern sich nähren, wird man allerdings zum Beweis dieser Lehre kaum hinweisen können, da sie sich möglicherweise ihre Widerstandsfähigkeit gegen die Fäulnisgifte erst erworben haben. Andererseits darf man auch nicht die bekannte Tatsache, daß Fische durch die Einleitung von Schmutzwasser in Flüsse und Seen geschädigt werden, als Beweis für eine giftige Wirkung der Faulstoffe ansehen, denn wenn man von sehr hohen Konzentrationen der letzteren absieht, ist der Sauerstoffmangel in solchen Gewässern die eigentliche Ursache des Fischsterbens¹⁾. Die Verhältnisse bei Fischen und Säugetieren sind ferner schon deswegen nicht vergleichbar, weil das verunreinigte Wasser wohl auf die Kiemen der ersteren, nicht auf die Lungen der letzteren wirkt. Beweiskräftig genug sind aber schon die Erfahrungen des täglichen Lebens: Nahrungsmittel, die in dem ersten Stadium fauliger Zersetzung begriffen sind, werden häufig und ohne Schaden aufgenommen. Gerade diese erste Fäulnisperiode soll aber die schlimmsten Gifte erzeugen (Hille r). Auch das Vieh genießt häufig verdünnte Jauche an Stelle von Trinkwasser, ohne Nachteil davon zu haben. Außerdem sind

1) W e i g e l t, Arch. f. Hyg. 3, 1885. Vgl. K ö n i g, Verunreinigung der Gewässer, 2. Aufl. 1899, 2. 31.

aber Fütterungsversuche mit allerhand faulendem Material angestellt worden. So trank Emmerich¹⁾ große Mengen stark verunreinigten Bachwassers trotz anfänglich vorhandenen Magenkatarrhs ohne Beschwerden. Tissier und Gasching²⁾ verfütterten faules Fleisch und stark zersetzte Milch an junge Tiere und erwachsene Menschen ohne Erfolg. Welte³⁾, Spieckermann und Bremer⁴⁾, König und Spieckermann⁵⁾ sahen ebenso wenig Nachteil, wenn sie verschimmeltes Brot und verschimmeltes oder verfaultes Baumwollensaatmehl Menschen oder Tieren zur Nahrung gaben. Auch der Hausschwamm ist ohne Einwirkung auf die Gesundheit der Menschen (Hartig, Gottschlich⁶⁾).

Nun wird man ja freilich den Wert solcher Versuche nicht überschätzen dürfen. Es wird wohl empfänglichere Individuen besonders in zartem Alter geben, denen derartige verdorbene Nahrung nicht bekommt. Das Ekelgefühl, das dadurch hervorgerufen wird, kann allein schon krankmachen. Immerhin kann man nicht leugnen, daß dem Darme eine starke Widerstandsfähigkeit gegenüber Faulstoffen zukommt.

Dieser Satz wird auch dadurch bestätigt, daß ziemlich selten Krankheitserscheinungen nach dem Genuß ursprünglich gesunden, aber später verdorbenen Fleisches beobachtet wurden. Van Ermengem⁷⁾ fand unter mehr als 100 Epidemien an Nahrungsmittelvergiftung mit mehr als 6000 Erkrankten nur 9, in denen der Gesundheitszustand der Schlachttiere unbekannt war, dagegen 103, wo sie nachgewiesenermaßen an Septizämie, Pyämie, Enteritis usw. krank gewesen waren. „Fäulnis“ des Fleisches wurde in sicherer Weise nur 5mal angegeben. Die beteiligten Bakterien sind wahrscheinlich gewisse Abarten des *Bac. proteus*, *coli* usw. Über die Gifte vgl. § 300 u. 288.

Mit den gewöhnlichen Fäulnisgiften nichts zu tun hat das Käse-, Fisch-, Wurst- und Fleischgift, das vom Darmkanal aus sogar epidemische Krankheiten verursacht. Soweit die betreffenden Gifte und ihre Erzeuger überhaupt bekannt sind, sind sie besonderer Art (vgl. *Bac. botulinus*, § 282, *paratyphi*, *enteritidis* § 287) und die

1) Zeitschr. f. Biol. 14, 1878.

2) Annal. Pasteur 1903. 561.

3) Arch. f. Hyg. 25, 1895.

4) Landwirtsch. Jahrb. 1902.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 540.

6) Zeitschr. f. Hyg. 20.

7) Les intoxications alimentaires. Bull. acad. méd. de Belgique 1895, vgl. auch van Ermengem in Kolle-Wassermanns Handb. path. Micr. 2. 665, 1903.

Erkrankungen teilweise den echten Infektionen zuzuweisen, weil die Keime sich im erkrankten Körper vermehren.

Gelegentlich kommen auch unter den weit verbreiteten Mitgliedern der Heubazillengruppe giftige Keime vor, die namentlich Säuglingen in der Milch gefährlich werden können (§ 301).

Ebenso führen manche Forscher die sog. Pellagra auf Gifte von Schimmelpilzen zurück (§ 307). Eigentlich faule Zersetzungen werden aber durch fast alle diese giftigen Keime nicht hervorgerufen.

Kapitel X.

Wandlungen einfacher Stickstoffkörper.

§ 189. **Einleitung. Spaltung des Lezithins und Cholins.** Im folgenden sollen die Wandlungen, welche die nicht eiweißartigen und nicht durch Fäulnis aus dem Eiweiß zu erhaltenden stickstoffhaltigen Substanzen, (z. B. Aminosäuren, die wir ja in den vorstehenden Abschnitten behandelt haben), durch Mikroorganismen erfahren, besprochen werden¹⁾. Die einzelnen Umsetzungen, die hier in Frage kommen, sind sehr ungleich bekannt. So fehlen z. B. Untersuchungen über die Alkaloide, die im Pflanzenreich eine so große Rolle spielen (vgl. S. 462). Gut studiert sind dagegen die Veränderungen der Hippursäure, Harnsäure, des Harnstoffs, der Salpetersäure, des Ammoniaks und des Stickstoffs. Sie sind zugleich Beispiele für hydrolytische Spaltungen, Gärungen, Reduktionen, Oxydationen und Synthesen.

Die im Tier- und Pflanzenreich weit verbreiteten **Lezithine** werden nach **R u a t a** und **C a n e v a** ²⁾ durch verschiedene Bakterien (*Bac. mesentericus*, *prodigiosus*, *Spir. Finkler-Prior*) unter Wasseraufnahme in Cholin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren gespalten. Der stickstoffhaltige Bestandteil, das **Cholin** (Trimethyloxäthylammoniumhydroxyd $C_5H_{15}NO_2$) zerfällt dann durch die Fäulnis (unter Luftabschluß) in Kohlensäure, Sumpfgas, Ammoniak und Methylamin³⁾. Nicht immer geht aber die Spaltung so weit, vielmehr steht sie nach **B r i e g e r s** Feststellungen für Fäulnisbakterien und **J e s e r i c h** und **N i e m a n n s** ⁴⁾ Studien an Reinkulturen oft schon beim **Neurin** $C_5H_{13}NO$, das durch Wasserabspaltung aus dem Cholin entsteht, still. Die Bildung anderer Basen aus dem Cholin durch die Fäulnis behandeln wir bei den giftigen „Ptomainen“ (§ 259).

1) Die stickstoffhaltigen Glykoside wurden schon im Kap. VIII erwähnt.

2) *Annali d'igiene*. Roma 1901. Über Keimtötung durch Lezithin s. S. 18.

3) **H a s e b r o e k**, *Zeitschr. physiol. Chem.* 12. 148, 1888.

4) *Hyg. Rundschau* 1893. 813.

§ 190. **Spaltung der Gallensäuren und des Taurins.** Durch ältere Untersuchungen war wahrscheinlich gemacht worden, daß freie Gallensäuren, insbesondere die Taurocholsäure, antiseptische Eigenschaften haben. Meyerheim¹⁾ gab an, daß das für ihre Salze nicht oder wenigstens nur ausnahmsweise²⁾ (gegenüber Pneumokokken, Tetragenus, Staphylokokken) zuträfe. So wachsen z. B. Pyocyaneus- und Proteusbazillen in den reinen Salzlösungen sogar ausgezeichnet, und Coli- und Typhusbazillen zwar nicht in 1—5prozentigen, aber doch in 10prozentigen Lösungen. Die Verwertbarkeit der Gallensalze zur Ernährung ist dadurch bewiesen, und die Wahrscheinlichkeit, daß sie dabei auch gespalten werden können, gegeben. Ob das durch Oxydation oder auf anaëroblem Wege geschieht, darüber erfahren wir von Meyerheim nichts. Immerhin hat schon Hoppe-Seyler³⁾ mitgeteilt, daß Taurocholsäure durch die Fäulnis hydrolytisch in Cholsäure und Taurin und dieses, die Aminoäthansulfosäure $C_2H_7NSO_3$ weiter zersetzt werde. Dabei wird nach Nawiasky's Untersuchungen mit Proteus (S. 250), sofern durch Kreidezusatz für neutrale Reaktion gesorgt wird, ziemlich reichlich Ammoniak abgespalten. Weitere Studien wären erwünscht.

Ob der Ausfall des Cholestearins, die „Steinbildung“ in der Galle eine Folge der Zersetzung der Gallensäuren durch Bakterien ist, bleibt zweifelhaft, weil auch durch Autolyse oder Epithelien die gleiche Wirkung erzielt wird⁴⁾. Jedenfalls spricht das für Enzymwirkungen.

§ 191. **Spaltung der Säureamide, besonders der Hippursäure.** Die Säureamide sind, wie wir S. 110 u. 116 gesehen, meist fast ebenso gute Nährstoffe wie die Aminosäuren. Über ihre Zersetzungen weiß man aber fast noch weniger, als über die der letzteren (§ 168 ff.). Zunächst liegt es sehr nahe, für sie an die Möglichkeit einer hydrolytischen Spaltung in Ammoniak und Säure zu denken. In der Tat haben Arnaud und Charrin (S. 526) sowie Nawiasky (S. 510) das für das Asparagin, das Amid der Aminobernsteinsäure, gezeigt. Pyocyaneus und Proteus bewirken die Spaltung schnell und vollständig. Nach diesen Forschern ist der Vorgang ein enzymatischer, denn mit den Chloroform- oder Azetonbazillen erreicht man dasselbe wie mit den lebenden. Shibata⁵⁾ hat ebenfalls aus dem Rasen des

1) Zentr. Bakt. 44. 434, 1907.

2) Über die auflösende Wirkung der Galle und gallensauren Salze auf manche Bakterien und Protozoen vgl. S. 17 ff.

3) Physiol. Chem. S. 318.

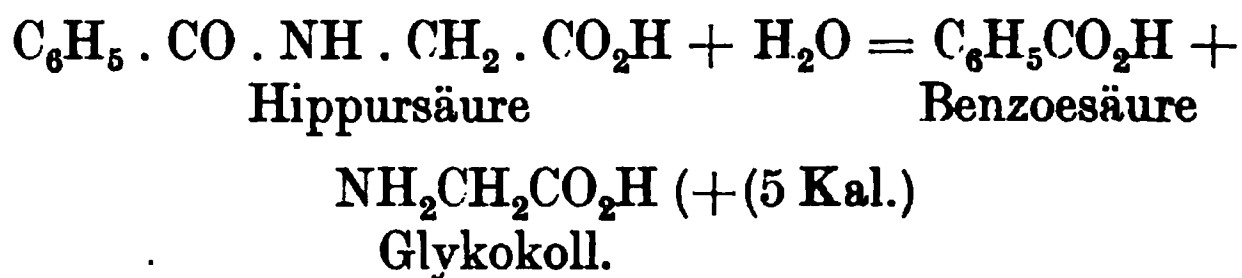
4) Exner und Heyrowsky, Wien. klin. Woch. 1908, 7; Bacmeister, Münch. med. Woch. 1908. 5—7.

5) Hofmeisters Beitr. 5, 1904.

Aspergillus niger ein Pulver hergestellt, das aus Azetamid, Oxamid, Biuret und Harnstoff Ammoniak abspaltete. Die Beziehungen des Enzyms zu den tryptischen Enzymen sind noch zweifelhaft¹⁾. Die weiteren Spaltungen werden natürlich ähnlich verlaufen, wie die der zugehörigen Säuren. Über die *V e r g ä r u n g* der Asparaginsäure bzw. des Asparagins durch den *Proteus*, *Pyocyaneus* usw. haben wir schon a. a. O. berichtet.

Bemerkenswert sind die Assimilationsversuche, die *B i e r e m a*²⁾ unter Zusatz von guten Kohlenstoffquellen mit Säureamiden anstellte. Während gewöhnlich weder Stickstoffverlust noch Ammoniakbildung eintrat, sondern die Amide glatt assimiliert wurden, ergab ein *Bac. pumilus* mit *A z e t a m i d* und Asparagin einen erheblichen Stickstoffverlust, den *B i e r e m a* auf Abspaltung und Verdunstung des an die Karboxylgruppe gebundenen Ammoniaks zurückführt.

Die *H i p p u r s ä u r e* (Benzoylaminoessigsäure) hat eine ähnliche Zusammensetzung wie die Dipeptide *E. F i s c h e r s*, verhält sich aber zu dem Trypsin, das jene durch Hydrolyse spaltet, anscheinend verschieden³⁾. Besonders wichtig ist die Hippursäure, weil sie bei Pflanzenfressern bekanntlich ein wichtiges Endprodukt des Stoffwechsels ist. Nach *v a n T i e g h e m*⁴⁾ verschwindet die Hippursäure aus dem Harn der Tiere oder künstlichen Lösungen von Hippursäure durch einen Kettenkokkus, den er dem Erreger der Harnstoffgärung (§ 195) gleichstellt. Dabei tritt Benzoesäure auf nach der Gleichung



Auch später wurde die Hippursäurezersetzung gewöhnlich zusammen mit der Harnsäure- und Harnstoffgärung studiert. *B u r r i*, *H e r f e l d t* und *S t u t z e r*⁵⁾ kamen dabei zu dem Schluß, daß die in der Jauche enthaltenen Bakterien aus Harnstoff am schnellsten, aus Harnsäure lang-

1) Vgl. *Gulewitsch*, Zeitschr. physiol. Chem. 27. 544, 1899; *Herzog* ebenda 37. 391, 1902; *Gonnermann*, Pflügers Arch. 89. 493: *Lang*, Hofmeisters Beitr. 5, 1904.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 707 u. 712, 1909.

3) *Nencki* und *Blank* (Arch. exper. Path. 20) fanden eine Spaltung, was *Gulewitsch* (s. o.) aber nicht bestätigte.

4) Thèse de la faculté des sciences de Paris, 1864 Nr. 256 und Compt. rend. 58. 210, 1864.

5) Journ. f. Landwirtsch. 1894.

samer und am schwierigsten aus Hippursäure Ammoniak abspalten. Die Art der Umsetzung prüften sie nicht näher, ebensowenig wie Yoshimura¹⁾, der Bodenproben aus verschiedener Tiefe in Hippursäurelösungen impfte und dabei fand, daß die Ammoniakbildung in der Nähe der Bodenoberfläche viel schneller vor sich geht, als in der Tiefe. Die ausführlichsten Untersuchungen über Hippursäurezersetzung verdanken wir Schellmann²⁾. Er infizierte zunächst reine Hippursäure-Mineralsalzlösungen oder Menschenharn mit Jauche und isolierte aus den in ammoniakalische Gärung geratenen 25 Bakterien, die Hippursäurelösungen unter Trübung und Ammoniakbildung zu zersetzen vermochten, von denen aber nur vier daneben auch Harnstoff und Harnsäure spalteten. Umgekehrt fand Schellmann in einigen Kölbchen mit Mineralsalzlösungen, in denen Hippursäure durch Harnsäure ersetzt war, und einigen anderen mit harnstoffhaltiger Peptonlösung 9 Bakterienarten, die sämtlich Harnstoff und Harnsäure, nur selten aber auch Hippursäure zersetzten. Die Fähigkeit zur Verwandlung der Hippursäure ist also offenbar eine besondere Eigenschaft und hat mit der, Harnstoff und Harnsäure zu zersetzen, nichts gemein. Andererseits scheint aber, wie fast vorherzusehen, und wie Verfasser aus weiteren Versuchen schließt, das Angriffsvermögen für Hippursäure mit dem für Glykoll zusammenzufallen³⁾. Übrigens war die Wirksamkeit der Bakterien eine ungleich starke und regelmäßig nur in 1prozentiger, nicht immer in 2—4prozentiger, nie in 6prozentiger Hippursäurelösung vorhanden. Die 5—60 Tage alten Kulturen von fünf Hippursäure und teilweise auch Harnstoff und Harnsäure spaltenden Arten in 1/2prozentiger Lösung wurden zur Hälfte nach vorsichtigem Eintrocknen auf Stickstoff-(Ammoniak-)verlust, zur anderen Hälfte nach Auskochen mit Schwefelsäure auf Kohlenstoff-(Kohlensäure-)Verlust untersucht. Am schwächsten wirkte ein Bakterium mit einem Verlust von 13,3% N und 6,6% C, am stärksten auf den Kohlenstoff ein zweites mit 53,8% N und 90,1% C und am kräftigsten auf den Stickstoff ein drittes mit 56,9% N und 19,6% C. Danach glaubt Schellmann, daß die Hippursäure zunächst in Benzoessäure und Glykokoll gespalten, dann die letztere vornehmlich zu Kohlensäure und Ammoniak verbrannt und schließlich auch manchmal die Benzoessäure zum großen Teil oxydiert wurde. Die wichtige Rolle des Sauerstoffs

1) Kochs Jahresber. 1896. 219.

2) Göttinger philos. Dissert. 1902 (Kochs Jahresber.).

3) Azetylglykokoll und Benzoylamidopropionsäure wurden von einigen Arten ähnlich zersetzt.

ist unverkennbar, denn unter Sauerstoffabschluß kam es niemals zur Vergärung der Hippursäure. Ob nicht andere Bakterien jedoch auch dazu befähigt sind, ist noch zweifelhaft¹⁾.

Auch Pilze scheinen die Hippursäure angreifen zu können. Wenn es Nikitinsky²⁾ nicht gelang, dabei Benzoessäure nachzuweisen, so liegt das vielleicht daran, daß der Benzoylrest durch sie sofort weiter verbrannt wird.

Die Versuche Bieremas³⁾ verfolgten nur den Zweck, die Brauchbarkeit der Hippursäure als Stickstoffnahrung zu beweisen. Deshalb wurden den Hippursäure-Nährböden andere gute Kohlenstoffquellen beigegeben. Das Ergebnis war, daß Schimmelpilze die Hippursäure ohne Ammoniakbildung bzw. -verlust verbrauchten, während ein Bact. erythrogenes sich ähnlich verhielt, aber etwas Ammoniak abspaltete.

Die Art der Zersetzung des Glykokolls ist übrigens durch alle diese Arbeiten wie auch die sonstigen über Spaltung von Aminosäuren (S. 519 und 632) noch nicht genügend aufgeklärt.

§ 192. **Fleischextraktivstoffe.** Die vorzügliche Brauchbarkeit des Fleischextrakts zur Ernährung von Mikroorganismen ist längst eine bekannte Tatsache. Über die Art, in welcher die einzelnen ihn zusammensetzenden Körper dabei verändert werden, ist aber wenig bekannt. Wir wissen nur, daß Fleischextrakt sowohl zur Fäulnis, d. h. zu anaëroben Spaltungen, als zur Oxydation geeignet ist. Eine besondere Art der Fäulnis mag hier erwähnt werden. Es ist die Sumpfgasgärung, die Tappeiner nach Impfung mit Panseninhalt in ihm nachwies (§ 117). Zunächst wurden flüchtige Säuren, und zwar meist Essigsäure, ferner Kohlensäure, Wasserstoff und auch etwas Sumpfgas entwickelt. Nach einigen Wochen beginnt dann eine neue Gärung, deren Gase vorwiegend aus Sumpfgas neben Kohlensäure und Schwefelwasserstoff bestehen. Welcher Körper als Quelle dafür in Betracht kommt, ist zweifelhaft. Bekanntlich verfällt aber sowohl Essigsäure (§ 141) wie Buttersäure (§ 145) und Pepton der Sumpfgasgärung (§ 179). Man braucht also wohl nicht an seine unmittelbare Entstehung aus den eigentlichen Extraktstoffen des Fleisches zu denken. Für die Ammoniakbildung, die vielfach in Fleischextraktkulturen beobachtet worden ist⁴⁾, kommen sie dagegen wohl in Betracht. Das

1) Vgl. Déhéraïn und Dupont ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 233, 1900.

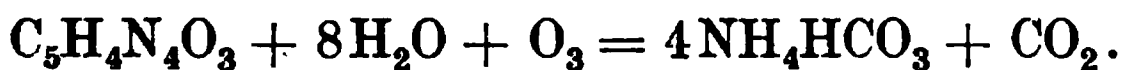
2) Jahrb. wiss. Bot. 40, 1904.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 709, 1909.

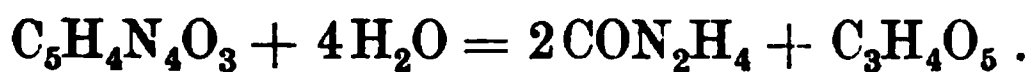
4) VandeVelde, Zeitschr. physiol. Chem. 8. Vgl. auch die Versuche von Berghaus und Nawiascky, § 169 ff.

lehren ausdrücklich die Versuche über die Zersetzung des *Kreatins* und *Kreatinins*, so die *Nawiasks*, die mit *Proteus*, *Vibrio Finkler* usw. (S. 519, 523), die *Marchals*, die mit *Bac. mycoides* angestellt worden sind (S. 529). Allerdings blieb die Ammoniakabspaltung und die Verwertung zur Assimilation eine geringe, und die Zersetzung wurde nicht vollständig aufgeklärt. Die Umwandlung von Kreatin (Methylguanidinessigsäure) zu Kreatinin, die durch Wasserabspaltung erfolgt, scheint auch durch Bakterien ziemlich leicht bewirkt zu werden, nicht aber der Übergang zum Harnstoff.

§ 193. **Harnsäure, Purinbasen.** Über die Zersetzungsfähigkeit der Harnsäure (Trioxypurin) ist nach den oben erwähnten Arbeiten von *Burri*, *Stutzer* und *Herfeldt* und *Schellmann* (§191) kein Zweifel. Die Gebrüder *Sestini*¹⁾ hatten aber schon früher die in Aufschwemmungen von Harnsäure nach Impfung mit faulem Harn auftretende ammoniakalische Gärung genau verfolgt und in acht Tagen eine vollständige Umwandlung zu kohlensaurem Ammoniak beobachtet. Man kann etwa die Gleichung annehmen:



Bei vorzeitiger Unterbrechung der Versuche fanden sie Harnstoff und führen das darauf zurück, daß Harnsäure durch Oxydation sich leicht in *Alloxan* und Harnstoff verwandele. Nach *Gérard*²⁾ würde der Prozeß aber in zwei Stufen verlaufen, bei denen verschiedene Bakterien beteiligt sind. Durch die eine übrigens nicht reingezüchtete Art wird die durch Dinatriumphosphat in Lösung gehaltene Harnsäure unter Wasseraufnahme in Harnstoff und *Tartronsäure* zerlegt:



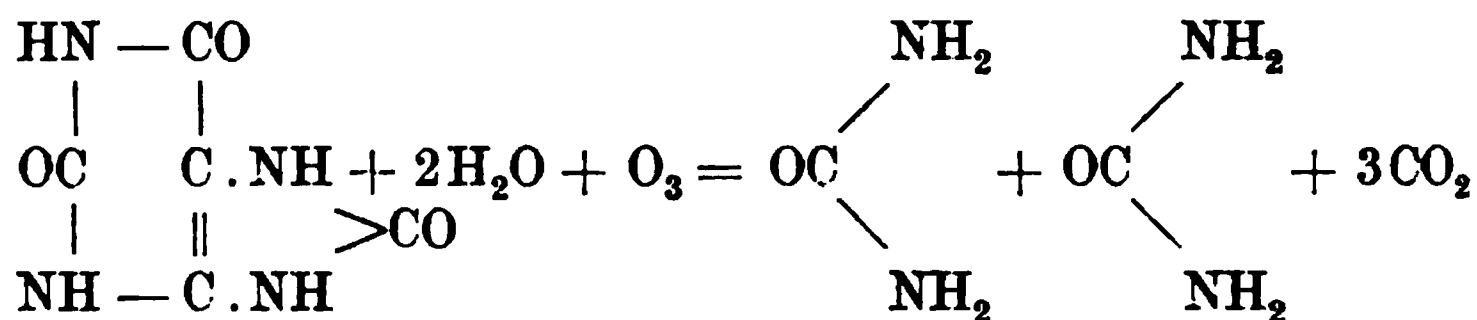
Die gewöhnlichen Harnstoffbakterien zerlegen dann den Harnstoff in der bekannten Weise zu kohlensaurem Ammoniak und verbrennen die *Tartronsäure*. Immerhin ist es wahrscheinlich, daß Bakterienarten weit verbreitet sind, die die Spaltung in anderer, z. B. in der von *Sestini* angegebenen Weise, allein für sich vollziehen können (s. o. S. 591 bei *Schellmann*). *Ulpiani*³⁾ hat dann noch aus Hühnerkot einen *Bazillus* isoliert, der Harnsäure ausschließlich in Harnstoff umwandelt. Daß dieser Vorgang übrigens nicht in einem

1) Landwirtschaftl. Versuchsstation 38, 1890, *Kochs* Jahresber. 1890. 100.

2) Compt. rend. ac. sc. 122. 1019 und 123. 185, 1896.

3) Rendic. Acc. Lincei 12, 1903.

Zuge vor sich gehen wird, folgt aus der verwickelten Strukturformel der Harnsäure:



Jedenfalls haben wir aber schon nach den vorliegenden Angaben mindestens drei Möglichkeiten der Harnsäurezersehung, bei der immer der Sauerstoff eine Rolle spielt. Von bekannten Bakterien ist der *Proteus* von Nawiascky (S. 520) in seinem Verhalten zur Harnsäure studiert worden. Er greift sie — wegen ihrer sauren Reaktion? — nur wenig an. In seinen mehrfach erwähnten Assimilationsversuchen mit Beigabe von guten Kohlenstoffquellen hat Bierema (S. 590) gefunden, daß *Bac. aërogenes* die Harnsäure völlig ausnutzte ohne Ammoniakentwicklung und Stickstoffverlust. Bei *Bac. radiobacter* und *Penicillium glaucum* wurden die beiden letzteren Erscheinungen aber in gewissem Grade beobachtet.

Nach Schellmann (s. o.) wurden auch Koffein (Trimethyldioxypurin) und Theobromin (Dimethyldioxypurin) durch einige Bakterien, die Hippursäure zersetzen, in ähnlicher Weise gespalten (vgl. S. 461).

Guanin (Aminooxypurin) zerfällt nach Ulpiani und Cingolani¹⁾ durch ein Bakterium aus Taubenmist (s. o.) in Harnstoff, Guanidin und Kohlensäure. Das Guanidin $\text{NH}_2 \cdot \text{C} \cdot \begin{smallmatrix} \text{NH}_2 \\ \text{NH} \end{smallmatrix}$, das durch Barytwasser und nach Ackermann²⁾ auch durch Fäulnis in Harnstoff umgewandelt wird, wurde in Assimilationsversuchen von Bierema fast ebensogut wie der Harnstoff assimiliert, zum Teil unter Abspaltung von Ammoniak.

Eine andere Art der Umwandlung des Guanins, nämlich die in Xanthin (Dioxypurin) scheint häufiger vorzukommen. Wie Baginsky, Schindler, Schittenhelm und Schröter³⁾ feststellten, wird sie durch Fäulnis- und Colibakterien bewerkstelligt. Der Vorgang ist, wie die Erfahrungen Shigas am Hefepreßsaft (S. 497) lehren, ein enzymatischer, indem unter Wasseraufnahme die Amidgruppe als Ammoniak abgespalten wird. Ebenso soll Adenin (Aminopurin) in Hypoxanthin (Oxypurin) übergehen. Die Zersetzungen

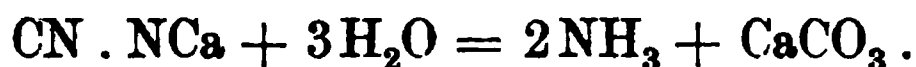
1) Rendic. Acc. Lincei 14, 1905, ref. Chem. Zentr. 1906 I. 694.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 60, 1909.

3) Ebenda 41. 285, 1904.

durch Fäulnisbakterien stehen dabei wohl nicht still, sind aber noch aufzuklären.

§ 194. **Zersetzung des Kalkstickstoffs.** Der Kalkstickstoff, das Kalziumzyanamid, ist bekanntlich neuerdings als Düngemittel wichtig geworden. Es war von vornherein wahrscheinlich, daß diese Wirkung sich erklärt durch eine Hydrolyse, die zur Ammoniakabspaltung führt. Denn durch Wasser findet unter hohem Druck folgende Umsetzung statt:



Nach L ö h n i s¹⁾ und seinen Mitarbeitern spielen dabei Bakterien eine große Rolle, doch wohl nur bei einem Teil der Umsetzung, weil schon in der keimfreien Lösung unter Einfluß kohlensäurehaltigen Wassers die erste und zweite Stufe der Hydrolyse, nämlich



und (auf einem Umwege über das Ammoniumcyanat)



d. h. Harnstoff entsteht. Die dritte und letzte Stufe der Hydrolyse endlich, die Umwandlung des Harnstoffs zu kohlensaurem Ammoniak (§ 195), scheint erst durch Bakterien vollzogen zu werden, wenn Zucker und auch leichter assimilierbare Stickstoffsubstanz (Asparagin) zugegen sind. Nach L ö h n i s wirken am kräftigsten Bac. Kirchneri, Lipsianus und erythrogenes, schwächer das Bact. Zopfii, am schwächsten Bact. fluorescens, coli und gar nicht Bact. Proteus. Die beiden ersten sind, wie zu erwarten, Harnstoffvergärer. Umgekehrt sind aber die gewöhnlichen Harnstoffvergärer durchaus nicht regelmäßig imstande, den Kalkstickstoff zu zersetzen, wahrscheinlich deshalb, weil nicht alle Arten der schädlichen Einwirkung des Zyanamides genügende Widerstandskraft entgegensetzen.

Über die Zersetzung eines zweiten bei der Auflösung des Kalkstickstoffs im Wasser entstehenden Stoffs, des Dizyandiamides, sind die Gelehrten noch nicht einig. Nach den deutschen Forschern wäre dieser Stoff unzersetzlich, nach Ulpiani und Perotti²⁾ dagegen leicht assimilierbar, aber nicht der Ammoniakabspaltung zugänglich.

§ 195. **Vergärung des Harnstoffs.** Der größte Teil der Tiere scheidet bekanntlich als Endprodukt seines Stoffwechsels Harnstoff

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 14. 87 und 389, 1905; 20. 322, 1908; 22. 254, 1909; mit Lit. vgl. aber auch K a p p e n ebenda 22. 281.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 21. 200.

aus. Die Pflanzen und die meisten Mikroorganismen¹⁾ vermögen diesen nicht unmittelbar zur Stickstoffernährung zu benutzen, sondern erst nach seiner Umwandlung in kohlen saures Ammoniak. Diesen Prozeß vollzieht eine große Schaar weitverbreiteter Bakterien. Man kann sich leicht davon überzeugen, wenn man frischen Harn ohne besondere Vorsichtsmaßregeln aufbewahrt. Früher oder später sieht man, wie sich in der ursprünglich keimfreien Flüssigkeit ein Gewimmel von Bakterien entwickelt, die saure Reaktion in die alkalische umschlägt, und der Geruch nach Ammoniak auftritt. Auch hier freilich hat es lange gedauert, bis man die ammoniakalische Gärung auf die Tätigkeit von Mikroorganismen zurückzuführen lernte; P a s t e u r²⁾ stand hier wieder mit an erster Stelle. Als Erreger der Gärung sprach v a n T i e g h e m³⁾ das *Bact. ureae*, andere den *Micrococcus ureae* und dergleichen⁴⁾ an, bis L e u b e⁵⁾ und dann in besonders umfangreichen Studien M i q u e l⁶⁾ und B e i j e r i n c k⁷⁾ durch Reinkulturen nachwiesen, daß es in der Luft und Erde, im Fluß- und Kanalwasser eine große Anzahl von Bakterien gibt, die den Harnstoff vergären. Die beiden letzteren Autoren unterscheiden sie als *Urococcus*, *Urosarcina*, *Planosarcina ureae*, *Urobacillus*, *Streptothrix urica*, womit aber nicht gesagt sein soll, daß diese Bakterien nur auf Harnnährböden zu wachsen vermöchten; im Gegenteil sind die meisten nur gewöhnliche Saprophyten. Auch der *Bac. proteus*, *putrificus coli* und *perfringens* sind kräftige, der *Staphylococcus pyogenes albus* und der *Bac. coli* (?) schwache Harnstoffbakterien (Tissier und Martelly⁸⁾). Beijerinck fand auch Leuchtbakterien wirksam. Eine gewisse Wirkung scheint danach fast allen Mikroorganismen zuzukommen.

Am energischsten wirkt der *Urobacillus Pasteurii*, eine Art *Clostridium*. Er verdrängt in 10prozentiger Harnstoffbouillon, die man mit Gartenerde geimpft hat, schließlich alle anderen Bakterien und zersetzt selbst noch eine Flüssigkeit, die ca. 14%

1) Vgl. S. 111.

2) *Annal. chim. phys.* 64. 6, 1862; vgl. auch P r o u s t, *Ann. chim. phys.* 2. sér. 14, 257 und M ü l l e r, *Journ. prakt. Chem.* 81. 452, 1860.

3) *Compt. rend.* 58. 210, 1864.

4) v. J a k s c h, *Zeitschr. phys. Chem.* 5, 1881.

5) *Virchows Archiv* 100, 1885.

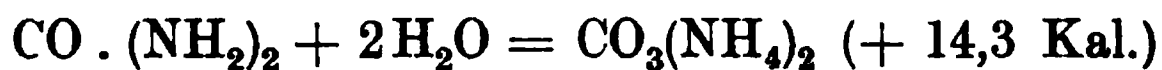
6) *Annal. de micrograph.* 1—9, 1889—1897 und *Etudes sur la fermentation ammoniacale etc.* Paris 1898.

7) *Zentr. Bakt.* 2. Atb. 7. 1901.

8) *Annal. Pasteur* 1902. Beim *Bac. coli* haben wir u. a. kein Resultat gehabt, was der sauren Reaktion des Harns bei Colizystitis entspricht, wohl bei verflüssigenden und nicht verflüssigenden Staphylokokken aus Zystitis.

Harnstoff enthält. In der Stunde und im Liter verwandelt er bestenfalls 3 g Harnstoff in Ammoniumkarbonat, d. h. viele Hundert mal mehr an Masse, als sein Körpergewicht beträgt (vgl. § 235). Auf Fleischgelatine wächst er nur sehr langsam und nur bei Zusatz von Ammoniumkarbonat (0,3%) und Harnstoff (2%). Harnstoff genügt keinem der Harnvergärer als ausschließliche Kohlenstoffnahrung (vgl. S. 117), manchen von ihnen aber neben Oxalat oder Azetat als Stickstoffquelle. Beijerinck schlägt zur schnellen Erkennung dieser Mikroorganismen eine Hefewassergelatine vor, die aus 20 g Preßhefe auf 100 g Wasser hergestellt, und der 2—3% Harnstoff zugesetzt wird. Schon in wenigen Minuten macht sich bei den Kolonien, die Ammoniak bilden, eine „Iriserscheinung“ bemerkbar, die durch den Niederschlag einer eigentümlichen Verbindung mit Kalizumphosphat bewirkt wird.

Die Gärung erfolgt nach der Gleichung:



und ist als ein enzymatischer Prozeß aufzufassen, der den Hydrolysen dadurch nahesteht, daß er durch Erhitzung auf hohe Temperaturen und Einwirkung von Säuren (und Alkalien) nachgeahmt werden kann, aber wie die Gärungen unter starker Wärmeentwicklung¹⁾ erfolgt. Schon Musculus²⁾ erhielt durch Fällen eines schleimigen, stark ammoniakalischen Zystitisharns mit Alkohol das Enzym im trockenen Zustande, hielt es aber für eine Ausscheidung der Schleimhaut. Lea³⁾ konnte es nur aus dem schleimigen Bodensatz, nicht aus dem filtrierten Harn darstellen. Es würde also von den Bakterien nicht in die Flüssigkeit abgeschieden, sondern erst aus diesen frei und in Wasser löslich, wenn sie mit Alkohol abgetötet worden sind. Beijerinck bestätigte die intrazelluläre Bindung des Enzyms; es tritt nach ihm aus den Bakterienleibern aus nach Fällung mit Alkohol oder in Kulturen, die man auf 50° erhitzt oder mit Chloroform versetzt hat. Leube fand dementsprechend filtrierte Kulturen unwirksam. Damit stimmt freilich nicht überein, daß Miquel⁴⁾ eine Enzymlösung zu gewinnen vermochte, wenn er Reinkulturen durch Porzellanfilter hindurchschickte. Jedoch sollen besondere Vorsichtsmaßregeln, vor allem Sauerstoffabschluß, dazu gehören. Die Widersprüche könnten sich aber auch durch die Verschiedenheit der benutzten Bakterien erklären.

1) Herzog, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37. 392, 1902. Direkte Wärmeentwicklung im Rubnerschen Kalorimeter § 237. Die Stoff- und Kraftbilanz ist im § 235 entwickelt.

2) Compt. rend. ac. sc. 78. 132, 1874 und Pflügers Arch. 12.

3) Journ. of physiol. 6, 1886.

4) Compt. rend. 111. 397, 1890.

Von allen Forschern¹⁾ wird die s e h r e m p f i n d l i c h e N a t u r des H a r n s t o f f e n z y m s, der U r e a s e, angegeben. Schon bei 50° wird es in wenigen Stunden zerstört, bei 70° in 20—30 Minuten, bei 80° in wenigen Sekunden. Haltbar ist es einige Wochen lang bei 0°. Alkohol, Toluol, Chloroform zerstören es bald, weniger leicht Fluornatrium in dünner Lösung. Durch diese labile Beschaffenheit ähnelt es dem Alkoholenzym, der Zymase. Die Wirkung des Enzyms ist am ausgesprochensten bei 50°.

M o l l¹⁾ hat durch Immunisierung von Kaninchen eine freilich ziemlich schwache Antiurease erhalten. Hemmend wirkt schon normales Serum und sogar Harn. Vielleicht könnte man mit Hilfe der Antiurease Unterschiede der einzelnen Ureasen nachweisen.

In der lebenden Harnblase scheinen nur wenige Bakterien, vor allem der *Bac. proteus vulgaris*, ammoniakalische Gärung hervorrufen zu können (vgl. Infektionslehre).

Die Beziehungen der Harnstoffgärung zu der Gärung der Hippursäure, Harnsäure des Kalkstickstoffs usw. haben wir schon oben besprochen. Alle hier in Betracht kommenden Bakterien spielen im Erdboden und namentlich im Mist und in der Düngerjauche insofern eine ungünstige Rolle, als sie durch Ammoniakverdunstung zum Teil einen Stickstoffverlust verursachen (vgl. Denitrifikation S. 618). Diesem arbeitet entgegen die sog. Nitrifikation durch die Salpeterbakterien (§ 196).

§ 196. Nitrifikation, Salpetergärung. Die Pflanzen können sich mit wenigen Ausnahmen ebensogut von Ammoniak wie von salpetersauren Salzen nähren. Tatsächlich überwiegt die letztere Art der Ernährung, weil das Ammoniak im Boden regelmäßig in Salpetersäure übergeführt wird. Diesen Vorgang, die „Nitrifikation“, die insofern nützlich ist, als sie den Ammoniakstickstoff im Boden festlegt, kannte man schon lange, benutzte auch das Bekanntwerden der Salpeterlager²⁾ in sogenannten „Salpeterhütten“ zur Salpeterdarstellung, führte sie aber zunächst auf eine einfache Oxydation des Ammoniaks durch den Luftsauerstoff, bei dem nach D u m a s und M i l l o n ³⁾ der kohlensaure Kalk oder die Humusstoffe die Vermittler spielen sollten, zurück, bis auch hier die biologische Auffassung namentlich durch die Arbeiten von S c h l ö s i n g und M ü n t z ⁴⁾, P l a t h ⁵⁾

1) Vgl. auch M o l l, H o f m e i s t e r s Beitr. 2. 344, 1902.

2) Über deren Bildung vgl. M ü n t z, Annal. chim. phys. 6. 11. 118, 1887.

3) Compt. rend. ac. sc. 20. 1020, 1846 und 51. 548, 1860.

4) Ebenda 84. 301; 85. 1018; 89. 891 und 1074, 1877—1879; vgl. auch P a s t e u r ebenda 54. 265, 1862 und A l e x. M ü l l e r, Landwirtsch. Versuchsstat. 16. 241, 1873.

5) Landwirtsch. Jahrb. 1887.

und anderen über die chemische den Sieg davontrug. Sie wiesen nach, daß bei Ausschluß aller Mikroorganismen durch Sterilisierung die Ackererde nicht imstande ist, zu nitrifizieren, und daß die Umwandlung in den Temperaturgrenzen, zwischen denen ein Leben möglich ist, vor sich geht. Gleichzeitig lieferten die französischen Forscher auch den Beweis, daß als Zwischenprodukt der Nitrifikation salpetrige Säure auftritt. Die Reinzüchtung der dabei tätigen Mikroben und gründliche Klarlegung des ganzen Vorgangs gelang nach mehr oder weniger vergeblichen, wenn auch beachtenswerten Versuchen von H ü p p e und H e r a e u s (vgl. S. 120), A d a m e t z, P. F r a n k - l a n d ¹⁾, W a r i n g t o n ²⁾ u. a. erst W i n o g r a d s k y ³⁾ und seinem Mitarbeiter O m e l i a n s k y ⁴⁾. Nach W i n o g r a d s k y hat man zu unterscheiden zwischen den N i t r o s o b a k t e r i e n (Nitrosomonas und Nitrosococcus), die ausschließlich befähigt sind, Ammoniak zu salpetriger Säure zu oxydieren und den N i t r o b a k t e r i e n, die nur salpetrige Säure in Salpetersäure verwandeln. Beide sind in ihren Spielarten überall in der Welt verbreitet, z. B. auch auf den höchsten Bergen, unter dem ewigen Eis⁵⁾, doch nur im Erdboden und im Wasser⁶⁾, nicht in der Luft, und zwar stets nebeneinander, woraus es sich erklärt, daß das Zwischenerzeugnis, die salpetrige Säure, gewöhnlich nicht oder nur in Spuren nachweisbar ist.

Zum Zweck der Isolierung⁷⁾ der Nitritbakterien werden zunächst Vorkulturen der Erde angelegt in einer Lösung, die auf

1000 g destilliertes Wasser,
2 „ Ammon. sulf.,
2 „ Natr. chlorat.,
1 „ Kal. phosph.,
0,5 „ Magn. sulf.,
0,4 „ Ferr. sulf.

enthält und auf Erlenmeyerkolben von 12 cm Durchmesser zu je 50 ccm mit Zusatz von 0,5 g Magnesiumkarbonat verteilt werden. Die dritte oder vierte Überimpfung in dieser Lösung führt gewöhnlich schon eine solche Anreicherung der Nitritbakterien herbei, daß an die weitere Verarbeitung in Platten gegangen werden kann. Am besten ist es, zur Überimpfung den Augenblick zu wählen, in dem die Bakterien aus dem Zoogloen-(Haufen-)

1) Transactions Roy. Soc. 181. 107, 1890.

2) Chemical News 1891.

3) Annal. Pasteur 1890 und 1891; Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 243, 1895 und 2. 415, 1896 und L a f a r s Handb. 3. 132, 1904.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 329, 473 und 537, 1899.

5) M ü n t z, Annal. chim. phys. (6) 11. 136, 1887.

6) T h o m s e n, Ber. bot. Ges. 21. II. 1907 (Golf von Neapel).

7) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 537.

Stadium in den frei beweglichen Zustand übergehen und die Flüssigkeit leicht trüben. Zur weiteren Isolierung hat Beijerinck¹⁾ empfohlen. Platten von gründlich ausgewaschenem Agar zu benutzen. Nach Omeliansky (a. a. O.) wachsen die Nitritbakterien darauf aber viel langsamer und schlechter als auf Kieselsäuregallerte, die allerdings schwieriger zu bereiten ist. Klare und reine Wasserglaslösung vom spezifischen Gewicht 1,05 wird allmählich unter Umschütteln mit gleichen Teilen Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,10 gemischt und die Mischung in gut schließenden Pergamentschläuchen dialysiert bis zum Verschwinden des Chlornatriums. In fließendem Leitungswasser gelingt das binnen 24 Stunden. Eine Trübung darf dabei nicht eintreten, weil sonst das Dialysat beim Sterilisieren gerinnt. 50 ccm der sterilisierten Kieselsäurelösung werden dann möglichst schnell hintereinander mit folgender vorher sterilisierter Zusatzflüssigkeit vermischt:

1. 2,5 ccm einer Lösung von 1‰ Kal. phosph.,
 3‰ Ammon. sulf.,
 $0,5\text{‰}$ Magn. sulf.,
2. 1,0 ccm einer 2 prozentigen Lösung von Ferr. sulf.,
3. eine Platinöse oder ein kleiner Tropfen einer konzentrierten Kochsalzlösung,
4. soviel von einer Aufschwemmung von kohlensaurer Magnesia, daß die Gallerte milchig aussieht. Nach dem Ausgießen in gewöhnliche Doppelschalenplatten tritt bald die Gerinnung der Nährlösung ein. Ihre Impfung erfolgt durch einen Tropfen der flüssigen Ausgangskultur, die mit einem Glasstabe ausgebreitet wird, oder durch Vermischen mit einem Tropfen der Aussaat vor dem Ausgießen zu Platten. Um das Wachstum der Kolonien zu beschleunigen, wird, sobald die Ammoniakreaktion des Nährbodens zu schwinden beginnt (nach 4—8 Tagen), in seitliche Ausschnitte der Platte ein Tropfen einer 10prozentigen Ammoniumsulfatlösung gebracht. Die fortschreitende Säurebildung klärt allmählich die milchige Trübung der Platte auf und läßt die sehr kleinen kompakten, stark lichtbrechenden, gleichmäßig granulierten Kolonien binnen 14 Tagen etwa deutlich hervortreten. Um aus den Kolonien Reinkulturen zu erhalten, müssen zahlreiche Abimpfungen in die erstgenannte Nährlösung und gleichzeitig Kontrollimpfungen in Bouillon vorgenommen werden. Die Kieselsäuregallerte läßt sich auch in Reagensgläsern zu Strichkulturen verwenden. Auch hier empfiehlt es sich, ab und zu Ammonsulfatlösung zuzusetzen.

Die Nitratbildner werden ebenfalls zunächst in einer Flüssigkeit vorgezüchtet, die

1000 g dest. Wasser,
 1 „ Natr. nitrosum (Merck),
 1 „ Natr. carb. calc.
 0,5 „ Kal. phosph.,
 0,5 „ Natr. chlorat.,
 0,4 „ Ferr. sulf.,
 0,3 „ Magn. sulf.

1) Zentr. Bakt. 1. Abt. 19. 258, 1896.

enthält. Die Bakterien wachsen darin in zusammenhängenden, an den Glaswänden haftenden Häuten. Ihre Isolierung auf Platten ist leichter, weil man dazu Agar benutzen kann von der Zusammensetzung:

2 g Natr. nitrosum,
1 „ Natr. carbon. calc.,
15 „ Agar,
1000 „ Leitungswasser.

Auch hier ist nachträgliches Zufügen von Natriumnitrit zu empfehlen. Die ziemlich großen Kolonien können nach 10—30 Tagen auf Röhrchen mit Nitritagar weitergezüchtet werden und geben recht ansehnliche Kulturen. Die üblichen Nährböden bleiben dagegen steril. Die günstigste Temperatur ist 25—30° C.

Aus der Zusammensetzung der Nährböden erhellt schon, daß die Nitrifikationsorganismen ihren Kohlenstoff nicht aus organischem Material, sondern ausschließlich aus der Kohlensäure entnehmen (S. 120). Besondere Versuche haben dann Godlewski¹⁾ gezeigt, daß das einfach kohlensaure Salz nicht zur Ernährung der Nitritbakterien genügt, wohl aber das doppeltkohlensaure Salz oder die freie Kohlensäure der Atmosphäre. Für die Nitratbakterien kamen Winogradsky und Omeliansky²⁾ zu einem ähnlichen Schluß, fanden allerdings, daß das kohlensaure Salz ebenso unentbehrlich ist, als die freie Kohlensäure, woraus zu folgern wäre, daß die Bikarbonate es sind, durch der Kohlenstoff assimiliert wird. Doch müssen diese Versuche wohl noch in erweiterter Form wiederholt werden. Der Einwand Elfving's, daß es vielleicht gar nicht die Kohlensäure sei, die assimiliert würde, sondern andere kohlenstoffhaltige Stoffe der Atmosphäre, deren Wert für die Ernährung mancher Bakterien Beijerinck festgestellt hat (vgl. S. 122), ist nach Godlewski³⁾ nicht stichhaltig, denn die Nitrifikation findet auch statt, wenn die Luft, die zugeführt wird, durch konzentrierte Schwefelsäure vorher gereinigt ist.

Daher darf man wohl daran festhalten, daß in den Nitrifikationsbakterien die ersten Organismen gefunden worden sind, die aus der Kohlensäure ohne Hilfe des Lichts ihre Eiweißkörper aufbauen können, also, wenn man will, noch leistungsfähiger sind, als die chlorophyllführenden Pflanzen. Ermöglicht wird ihnen diese Arbeitsleistung durch die Oxydation des Ammoniaks und Nitrits, die ja eine reiche Kraftquelle darstellt.

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2. 458, 1896.

2) Ebenda 5. 336.

3) Koch's Jahresber. 1892. 219.

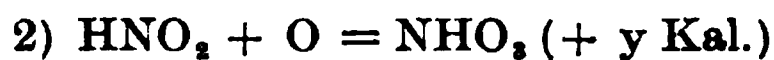
Für die Nitritbildner konnte Winogradsky feststellen, daß für je 1 mg Kohlenstoff, der assimiliert wurde, oder 2 mg Bakterientrockensubstanz 35,4 mg Stickstoff (43 mg Ammoniak) oxydiert und 96 mg salpetrige Säure gebildet wurde. Das Wachstum wurde in den Kulturen, wenn man durch Zufügen von Ammoniak das verbrauchte ergänzte, von Tag zu Tag energischer, so daß z. B. am 5. Tage 3 mg, am 10. Tage 9 mg, am 30. Tage 20 mg Stickstoff oxydiert wurden. In Parallelkulturen der Nitratbildner war die Entwicklung zwar auch eine aufsteigende, doch wurden selbst am 40. Tage erst 10 mg Stickstoff oxydiert¹⁾. Die dabei gebildete Menge organischen Kohlenstoffs war so gering, daß ihre Bestimmung nicht gelang. Es läßt sich das vorhersehen: da bei der Verbrennung der salpetrigen Säure zu Salpetersäure viel weniger Wärme entwickelt wird, als bei der Oxydation des Ammoniaks zu salpetriger Säure, wird um so mehr Salpetersäure gebildet werden müssen, um den Aufbau der gleichen Menge Bakteriensubstanz zu ermöglichen.

Die betreffenden Kalorienzahlen verhalten sich wie 18,3 zu 78,8, denn es ist²⁾



und nach Einsetzung der Bildungswärmen:

$$\begin{aligned} -20,4 &= -30,8 - 68,4 + x \\ \text{oder } x &= 78,8 \text{ Kal.} \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} -30,8 &= -49,1 + y \\ y &= 18,3 \text{ Kal.} \end{aligned}$$

Dabei ist allerdings zu bedenken, daß die Oxydation des Ammoniaks die Zersetzung des Ammoniaksalzes und damit einen Aufwand von Wärme erfordert. Die dadurch frei gewordene Schwefelsäure und die neu entstandene salpetrige Säure entwickeln aber ihrerseits wieder Wärme durch Auflösung der kohlensauren Magnesia.

Die Energieverhältnisse würden eine weitere Verschiebung erfahren, wenn es sich bewahrheitete, daß bei der Oxydation des Ammoniaks ein Teil des Stickstoffs als solcher entweicht (Godlewski³⁾). Vielleicht ist das auf die schon bei gewöhnlicher Temperatur eintretende Umsetzung $\text{N}_2\text{O}_3 + 2\text{NH}_3 = 3\text{H}_2\text{O} + 2\text{N}_2$ zurückzuführen, bei der viel Wärme frei wird. Die saure Reaktion, die dazu nötig ist, wird durch die Nitritbildner herbeigeführt.

Über die Art und Weise der Kohlensäureassimilation durch die Salpeterbakterien ist nichts bekannt. Bokorny hat neuerdings (Pflügers Archiv) die Baeyer-Löwsche Theorie, nach der Formaldehyd CH_2O das erste Umwandlungsprodukt der Kohlensäure sein soll, aus der durch

1) Boullanger und Massol (s. u.) arbeiteten mit einem kräftigeren Nitratbildner.

2) Nach Ostwald, Allgem. Chem. 2. Bd. 1. Abt. 1893 berechnet.

3) Ref. Kochs Jahresber. 1892. 219.

Kondensation bzw. Wasserabspaltung Zucker bzw. Stärke entstände, durch Versuche an Spirogyren zu stützen versucht. Danach sollen diese Chlorophyllpflanzen bei Ernährung mit sehr verdünntem Formaldehyd oder formaldehydschwefligsaurem Natron auch bei Lichtabschluß Stärke bilden. Licht wäre also nur nötig zur Umwandlung der Kohlensäure in Formaldehyd, nicht zu dessen weiterer Kondensation. Vorläufig kann man, um einen Einblick in die Energieverhältnisse zu bekommen, die Assimilation der Kohlensäure etwa in folgende Gleichungen fassen. Zunächst entsteht Traubenzucker:



Die zu dieser Synthese nötige Energie könnte von den Nitritbakterien durch die Oxydation von 9 Molekülen Ammoniak (s. o.) geliefert werden. Aus dem Zucker und Ammoniak kann man sich Eiweiß gebildet denken (vgl. § 231). Die dabei gebundene Wärme beträgt nur etwa 10 Kal., käme also gar nicht in Betracht; durch die Oxydation von je 9 Molekülen NH_3 könnte daher die Energie geliefert werden, die zur Assimilation von 6 Molekülen CO_2 nötig ist. Auf jedes Gramm Kohlenstoff machte das noch nicht 2 g Ammoniak, während tatsächlich 43 g oxydiert werden. Der Prozeß verläuft also anscheinend sehr wenig sparsam (vgl. § 235).

Daß die Nitrifikation auf ein Enzym, eine „Oxydase“ zurückzuführen ist, ist zwar wahrscheinlich, aber vorläufig noch nicht bewiesen. O m e l i a n s k y¹⁾ konnte weder mit Kulturfiltraten noch mit den Bakterienleibern Nitrifikation des Ammoniaks bewirken. Dabei sei bemerkt, daß M o l i s c h²⁾ die Ergebnisse F r i e d e l s über fermentative Wirkungen des C h l o r o p h y l l s nicht bestätigen konnte. Wohl ließ sich mit Hilfe der Leuchtbakterienmethode (§ 238) nachweisen, daß völlig getrocknete Blätter, wenn sie zerrieben und schnell verwandt wurden, Sauerstoff abschieden.

Außer der Kohlensäure, dem Ammoniak oder Nitrit und den anorganischen Salzen ist den Nitrifikationsbakterien nur noch der Sauerstoff nötig, und zwar, wie sich von selbst versteht, in reichlicher Menge. Mit anderen Stickstoff- oder Kohlenstoffsubstanzen können sie dagegen nicht ernährt werden: Peptone, Asparagin und selbst die dem Ammoniak so nahestehenden Amine (Methyl- und Dimethylamin) sind dazu unbrauchbar³⁾. Ja, alle organischen Stoffe, die sonst als vorzügliche Nährmittel bekannt sind, besitzen sogar die Eigenschaft, die Tätigkeit und das Wachstum dieser merkwürdigen Mikroben selbst in teilweise recht starken Verdünnungen noch zu hemmen oder ganz zu verhindern, sie wirken wie Antiseptika. W i n o g r a d s k y und O m e l i a n s k y haben dafür folgende Stufenleiter aufgestellt:

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 113, 1902.

2) Bot. Zeitg. 1904.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 329 und 473.

Wachstumhemmend oder verhindernd wirken	für das Nitritbakterium	Nitratbakterium
Glykose	0,025— 0,2%	0,05 — 0,3
Pepton	0,025— 0,2%	0,8 — 1,25
Asparagin	0,05 — 0,3	0,05 — 1,0
Glyzerin	0,2 — ?	0,5 — 1,0
Harnstoff	0,2 — ?	1,5 — 1,0
Essigsaures Natrium . . .	0,5 — 1,5	1,5 — 3,0
Buttersaures Natrium . . .	0,5 — 1,5	0,5 — 1,0
Fleischbrühe	10 — 40	10 — 60
Ammoniak	—	0,0005— 0,015

Besonders auffällig ist hier der Umstand, daß das Nitratbakterium schon durch kleine Spuren von Ammoniak gehemmt wird; man könnte also glauben, daß es erst die fast vollständige Oxydation des vorhandenen Ammoniaks abwarten müßte, ehe es in Tätigkeit treten könnte. Das wird auch in künstlichen Mischkulturen der Nitrit- und Nitratmikroben gewöhnlich beobachtet: zunächst gelangen die ersteren zur Entwicklung und verwandeln alles Ammoniak in Nitrit, und ihnen folgen dann erst die Nitratbakterien. Man kann also hier nicht von einer „Symbiose“, sondern nur von einer „Metabiose“ sprechen (§ 50).

Doch haben Boullanger und Massol¹⁾ gezeigt, daß die Nitratbakterien, wenn sie einmal in kräftiger Arbeit begriffen sind, auch durch ziemlich hohe Gaben von Ammoniak nicht mehr geschädigt werden, sondern daß dann eine wirkliche Symbiose zwischen beiden Arten von Mikroorganismen zustande kommt, so daß das Zwischenprodukt der Umwandlung, die salpetrige Säure, nur in Spuren auftritt. In der Natur ist dieses Verhältnis die Regel. Dieselben Autoren²⁾ haben dann auch nachgewiesen, daß die Hemmung der Nitratbakterien durch Ammoniaksalze nur in den künstlichen Kulturen eintritt, die 1‰ Natriumkarbonat enthalten, weil dadurch Ammoniak in Freiheit gesetzt wird. Nimmt man nur 0,2‰, so hindern selbst 1—2‰ Ammonsulfat nicht mehr die Nitrifikation. Ebenso haben sich die Angaben Winogradskys und Omelianskys über die Schädigung der Nitrifikation durch organische Stoffe nicht aufrecht erhalten lassen. Sie selbst bekamen schon recht ungleiche Ergebnisse (s. o.). Löhnis³⁾, Wimmer⁴⁾, Müntz und Lainé⁵⁾, Baza-

1) Annal. Pasteur 1903. 492 und 1904. 181.

2) Compt. rend. ac. sc. 140. 688. 1905.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12, 1903.

4) Zeitschr. f. Hyg. 48, 1904.

5) Compt. rend. ac. sc. 142. 430, 1906.

rewski¹⁾, Coleman²⁾, Stevens und Withers³⁾ sahen dann bei Zusatz von organischen Stoffen, namentlich Humus und Zucker gute, ja zum Teil kräftigere Nitrifikation als ohne diese Zusätze, zumal wenn sie Boden als Unterlage der Kultur benutzten, nicht mit einfachen Lösungen arbeiteten, wie die russischen Forscher (vgl. § 183 u. 187). Ebenfalls Verstärkung der Nitrifikation fand Bierema⁴⁾ neuerdings, wenn er Eiweiß in Form von Bakterien oder Pilzleibern der Erde zusetzte. Dadurch wird die Ansicht der russischen Forscher, daß Nitrifikation und Denitrifikation (s. u.) sich ausschließen, hinfällig. In der Tat scheinen sie nebeneinander vorkommen zu können, z. B. regelmäßig in den früher (S. 571) besprochenen biologischen Filtern (s. auch bei Löhns).

Die Zusammensetzung der Salzlösung ist für die Nitrifikation ebenfalls von Belang. Auf die Notwendigkeit des Eisens haben schon Winogradsky und Omeliansky hingewiesen. Nach Dumont und Crochetelle⁵⁾ würden die Chloride von Kalium und Kalzium die Nitrifikation im Boden beeinträchtigen, die Karbonate dieser Metalle, sowie das Kaliumsulfat sie begünstigen. Nach Löw⁶⁾ wäre es nicht gleichgültig, in welcher Weise das Ammoniak gebunden ist. Ameisensaures Ammoniak würde gar nicht, oxalsaures nur sehr schwierig von den nitrifizierenden Bakterien ausgenutzt. Nach Boullanger und Massol verfallen aber alle Ammoniaksalze der Nitrifikation, auch die der organischen Säuren, selbst in einer Konzentration von 6—10‰; nur die arsenigsauren, jodwasserstoff-, zitronen- und oxalsauren Ammoniumsalze müssen in starker Verdünnung (0,5—1‰) angewandt werden. Ebenso wenig Bedeutung für die Tätigkeit der Nitratbildner hat es, ob die ihnen gebotene salpetrige Säure an dieses oder jenes Metall gebunden ist, solange die Konzentration 1‰ nicht überschreitet; wenn sie stärker wird, werden die Nitrite der Alkalien und alkalischen Erden vorgezogen. Lösungen, die 30—50‰ Ammoniumsulfat oder 20—25‰ Kaliumnitrit enthalten, werden nicht mehr nitrifiziert.

Die günstigste Temperatur für die Nitrifikation ist 37°, und zwar für beide Arten von Mikroorganismen. Die Nitritbildner sind aber empfindlicher gegen Erhitzung, sie werden schon durch eine Temperatur von 45° binnen 5 Minuten, die Nitratbildner erst durch eine solche von 55° getötet (Boullanger und Massol).

1) Göttinger phil. Dissert. 1906.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 20, 1908.

3) Ebenda 23, 1909.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 6715, 1909.

5) Compt. rend. ac. sc. 117. 670, 1893; 118. 604, und 119. 92, 1894.

6) Chem. Zentr. 1896. 57.

Über die Bildung möglichst großer Mengen von Nitraten unter verschiedenen für das Gewerbe in Betracht kommenden Bedingungen haben M ü n t z und L a i n é ¹⁾ umfangreiche Versuche angestellt. Die Nitrifikation ließ sich in Komposterde bis auf 27—33 g Salpeter im Kilogramm Erde steigern. Durch Auslaugen mit Wasser erhielten die Verfasser Lösungen mit 90—157 ‰ Salpeter. Das Eindampfen solcher Lösungen zur Gewinnung von Salpeter würde sich vielleicht lohnen.

In der Literatur finden sich verschiedene Angaben, die besagen, daß auch noch andere Kleinwesen imstande seien, zu nitrifizieren, so wollte H e r a e u s ²⁾ beim *Bac. prodigiosus*, *typhi*, *anthracis*, *Spir. Finkler-Prior* und Deneke u. a. eine geringe Nitritbildung aus Ammoniak nachgewiesen haben. Wahrscheinlich sind diese Ergebnisse irrtümlich und daraus zu erklären, daß den betreffenden Nährböden Spuren von Nitraten beigemischt waren, die reduziert werden konnten (§ 197). Auch ist eine Nitritaufnahme aus der Luft nicht unmöglich³⁾. Die „Umzüchtung“ der Salpeterbakterien in andere Bakterien und Schimmelpilze, die S t u t z e r, B u r r i und H a r t l e b ⁴⁾ ausgeführt haben wollten, erwies sich bei der Nachprüfung durch G ä r t n e r ⁵⁾, C. F r ä n k e l ⁶⁾ und W i n o g r a d s k y ebenfalls als trügerisch, sie war durch unreine Kulturen vorgetäuscht worden. In späteren Veröffentlichungen hat S t u t z e r W i n o g r a d s k y s Darstellung im wesentlichen bestätigt⁶⁾. Auch W i m m e r (a. a. O.) kommt zu gleichen Resultaten. Neuerdings wird aber wieder von H e i n z e und namentlich D u n b a r die Möglichkeit der Salpeterbildung durch eiweißersetzende Pilze und Bakterien betont (§ 176).

§ 197. Denitrifikation, Nitritbildung. Der Nitrifikation, die durch die Salpeterbakterien bewirkt wird, steht die Denitrifikation oder Stickstoffgärung gegenüber. Sie verläuft in zwei Zeiten, der Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure oder besser der Nitrate zu Nitriten und der weiteren Zersetzung der Nitrite zu Stickstoff. Unter Umständen geht die Reduktion bloß bis zum Stickoxyd (§ 200), oder noch weiter bis zum Ammoniak (§ 199). Die Entstehung des Nitrits aus Nitrat wurde schon 1862 von G o p p e l s r ö d e r ⁷⁾ im Erdboden beobachtet und von M e u s e l ⁸⁾ auf Bakterienwirkung zurückgeführt. Die Entbindung freien Stickstoffs aus Nitraten bei der Fäulnis und im

1) Compt. rend. ac. sc. 141. 861, 1905.

2) Zeitschr. f. Hyg. 1. 193, 1886.

3) O m e l i a n s k y, Zentr. Bakt. 2. Abt. 5. 474.

4) Ebenda 1—3, 1895—1897,

5) Ebenda 4. 1898.

6) Ebenda 7, 1901.

7) P o g g e n d o r f s Annalen 195, 125.

8) Ber. chem. Gesellsch. 1875. 1214 und 1653.

Erdboden stellte zuerst Schlösing fest¹⁾. Gayon und du Petit²⁾, sowie Déhérais und Maquenne³⁾ machten dann bestimmte Mikroorganismen für die Gärung verantwortlich, die letzteren einen streng anaëroben Buttersäurebazillus, was übrigens nicht bestätigt worden ist, die ersteren luftliebende Bakterien, die Bac. „denitrificans α und β “. Die Zahl der später isolierten Arten ist eine recht bedeutende (§ 198).

Den meisten Mikroorganismen ist die Fähigkeit eigen, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. So fand Maassen⁴⁾, dem wir wohl die vollständigsten Untersuchungen darüber verdanken, unter 107 daraufhin untersuchten Bakterien 84, die in 5prozentiger Peptonlösung (mit 0,5% Salpeter) dazu imstande waren. Manche Hefe- und Schimmelpilze besitzen nach K. Wolff⁵⁾ ebenfalls diese Eigenschaft. Sie ist freilich sehr verschieden stark entwickelt, auch bei den Stämmen derselben Art (z. B. Bac. diphtheriae, cyanogenes) und bei nahe verwandten Arten, z. B. Heubakterien, fluoreszierenden Bazillen und Kommabazillen. Die Zusammensetzung des Nährbodens hat Einfluß auf das Ergebnis. Einmal gibt es Bakterien, die das Nitrat nicht angreifen, wenn ihnen andere Stickstoffquellen daneben zu Gebote stehen, z. B. die Bac. megatherium und mesentericus vulgatus. Dann kommt die Art der Kohlenstoffnahrung erheblich in Betracht. Meist ist die Nitratreduktion eine sehr viel kräftigere in Nährböden, die neben Pepton noch Kohlenhydrate, Glyzerin oder organische Säuren enthalten. Andererseits schwächt reichlicher Sauerstoffzutritt die Reduktion, wenn sie sie auch nicht verhindert. Doch scheinen sich die einzelnen Mikroorganismen verschieden zu verhalten, ebenso wie gegen den Zusatz von chloressigsaurem Kali (0,6%); nach Maassen verhindert dieser bei vielen Bakterien die Nitritbildung (s. u.), bei dem Bac. pyocyaneus aber nicht, obwohl er das Wachstum nicht hemmt. Freilich ist dieses Bakterium einer der kräftigsten Nitratzerstörer, verwandelt es doch 0,5% Salpeter binnen 24 Stunden vollständig in salpetrigsaures Salz. Wichtiger als dieses noch wenig klare Verhältnis ist die Tatsache, daß manche strenge Aërobier unterdenitritbildenden Bakterien bei Gegenwart von Salpeter

1) Compt. rend. ac. sc. 66. 237, 1868; 77. 203 u. 353, 1873. Nach Warrington und H. Jensen (Lafars Handb. 3. 186) hätte A. Smith 1867 die Stickstoffentbindung entdeckt. Hier auch andere Lit.

2) Ebenda 95. 644, 1882, und Annal. agronom. 1886. 256.

3) Compt. rend. 95. 691, 732 und 854, 1882.

4) Arb. Gesundheitsamt 18. 1, 1901 mit Literatur.

5) Hyg. Rundschau 1899. 546 nach Laurent (Bull. Ac. Roy. Belgique 1890) sollen auch Penicillium glaucum, Mucor racemosus und Saccharomyces reduzieren.

anaërob wachsen (z. B. *Pyocyaneus*, die fluoreszierenden Bazillen usw. vgl. S. 610). Sie benutzen offenbar den gebundenen Sauerstoff der Nitrate an Stelle des freien der Luft¹⁾.

In folgender Liste ist das Verhalten der bekannten Mikroorganismen angegeben:

Nitrat reduzieren binnen 4 Wochen zu Nitrit²⁾:

stark	mittelmäßig oder schwach	gar nicht
<i>Bac. aërogenes</i>	<i>Bac. anthracis</i>	<i>Bac. murisepticus</i>
„ <i>coli</i>	„ <i>mallei</i>	„ <i>megatherium</i>
„ <i>enteritidis</i>	„ <i>diphtheriae</i>	„ <i>subtilis</i>
„ <i>typhi</i>	„ <i>pseudotuberculosis</i>	„ <i>mesentericus</i>
„ <i>rhinoscleromatis</i>	„ <i>pestis</i>	„ <i>vulgatus</i>
„ <i>suipestifer</i>	„ <i>cholerae gallinarum</i>	„ <i>fluorescens</i>
„ <i>typhi murium</i>	„ <i>suisepticus</i>	„ <i>liquefaciens</i> β
„ <i>proteus vulgaris</i>	„ <i>pneumoniae</i>	„ <i>fluor. non</i>
„ „ <i>mirabilis</i>	„ <i>proteus Zenkeri</i>	„ <i>liquefaciens</i> β
„ <i>prodigiosus</i>	„ <i>Zopfii</i>	„ <i>praepollens</i>
„ <i>phosphorescens</i>	„ <i>faecalis alcaligenes</i>	<i>Sarcina aurantiaca</i>
„ <i>pyocyaneus</i>	„ <i>tuberculoides Möller</i>	„ <i>flava</i> 1.
„ <i>fluorescens lique-</i>	„ „ <i>Petri</i>	<i>Spir. Finkler-Prior</i>
„ <i>faciens</i> α	„ „ <i>Rabi-</i>	„ <i>Miller</i>
„ <i>mycoides</i>	„ <i>nowitsch</i>	„ <i>rubrum</i>
„ <i>mesentericus ruber</i>	„ <i>fluorescens non li-</i>	„ <i>rugula</i>
„ <i>mesentericus aus</i>	„ <i>quefaciens</i>	„ <i>serpens</i>
„ <i>Milch</i>	„ <i>indigonaceus</i>	„ <i>volutans</i>
<i>Semiclostridium com-</i>	„ <i>cyanogenes</i>	<i>Oidium lactis.</i>
„ <i>mune</i>	„ <i>violaceus</i>	
<i>Staphyl. pyog. albus</i>	„ <i>Kiliensis</i>	
„ „ <i>aureus</i>	<i>Microc. candicans</i>	
<i>Spirillum Deneke</i>	<i>Sarcina mobilis</i>	
„ <i>Blankenese</i>	„ <i>flava</i> 2.	
<i>Mucor mucedo</i>	<i>Spirillum cholerae</i>	
<i>Rosahefe</i>	„ <i>Massaua</i>	
<i>Orangehefe.</i>	„ <i>Metschnikoff</i>	
	„ <i>Berolinensis</i>	
	<i>Monilia candida.</i>	

1) Über die Energieverhältnisse der Reaktion und deren enzymatische Natur s. u. § 198.

2) Zum Nachweis dienen außer der Gelbfärbung und Gasentwicklung durch Säurezusatz entweder Jodkaliumstärkekleister mit Schwefelsäure oder Sulfanilsäure und Naphtylamin. Über die sog. Nitrosoindolreaktion vgl. § 170.

§ 198. **Stickstoffgärung.** Die weitere Reduktion des Nitrits führt zu verschiedenen Vorgängen, zur Bildung von Stickoxyd, freiem Stickstoff und von Ammoniak. Wir besprechen zunächst die Entbindung von Stickstoff, oder wie man wohl sagen darf, die **Stickstoffgärung**. Sie wird verursacht durch verschiedene, hauptsächlich im Kot der Pflanzenfresser¹⁾, Mist, Stroh, in gedüngter und ungedüngter Erde²⁾, ja selbst im Meere³⁾ lebende Mikroorganismen, deren Gegenwart man leicht dadurch feststellen kann, daß man die betreffenden Stoffe in Salpeterbouillon einträgt und — am besten bei Sauerstoffabschluß — in den Brutofen stellt. Schaumbildung zeigt die Gärung an. Von den bisher rein gezüchteten Bakterien mögen die von Burri und Stutzer⁴⁾ beschriebenen *Bac. denitrificans* I und II (*Bact. Stutzeri*⁵⁾), das *Bact. Hartlebi* J e n s e n s⁶⁾, der *Vibrio denitrificans* S e v e r i n s⁷⁾, der *Bac. praepollens* M a a ß e n s aus Fäzes (S. 535), die Farbstoffbildner *Bac. pyocyaneus*⁸⁾, *fluorescens liquefaciens*⁹⁾ und *non liquefaciens*¹⁰⁾, der *Bac. vulpinus*¹¹⁾ genannt sein. Die meisten sind streng aërobe Bakterien, einige zersetzen Eiweiß kräftig, alle sind unfähig, Kohlenhydrate zu vergären. Die Mehrzahl wächst auf salpeterhaltigen (0,2—1,00) Nährböden unter Gasbildung und gleichzeitiger Bildung von Nitrit (§ 197), der *Bac. praepollens* und *denitrificans* I gären aber nur auf solchen, die salpetrige Salze (0,1—1,0) enthalten. Die letzten beiden Bakterien können daher erst Salpeterlösungen vergären, wenn sie zusammen leben mit Mikroorganismen, die Nitrat zu Nitrit reduzieren¹²⁾. Die Nitritbildung und Stickstoffgärung sind also Prozesse, die häufig nebeneinander vorkommen, die aber an sich voneinander unabhängig sind. Das

1) H. J e n s e n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 3 und 4.

2) Vgl. H ö f l i c h, Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 247 ff. und v a n I t e r - s o n ebenda 9, 1903.

3) B a u r, G r a n, K o c h s Jahresber. 1901.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 257 u. 356, 1895, vgl. W e i ß e n b e r g, Arch. f. Hyg. 30, 1900.

5) L e h m a n n und N e u m a n n, Bakteriologie.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 449, 1898.

7) Ebenda 1. 162 und 3. 510, 1897; 22. 348, 1909.

8) W e i ß e n b e r g a. a. O.

9) K. W o l f, Hygien. Rundschau 1899. 539.

10) M a a ß e n a. a. O. (§ 197).

11) v a n I t e r s o n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 106, 1904.

12) Über die schleimbildenden Semiclostridien (vgl. § 128), die nach M a a ß e n wahrscheinlich auch die Schaumgärung in Zuckerfabriken (Salpetersäuregärung der Melasse) verursachen, vgl. § 200.

entwickelte Gas ist meist reiner Stickstoff (vgl. aber § 200), die daneben regelmäßig gebildete Kohlensäure bleibt gewöhnlich im Nährboden gebunden an die Alkalien, die durch die Zerlegung der Nitrite in Freiheit gesetzt werden und eine stark alkalische Reaktion erzeugen. Die Gärung beginnt häufig schon am ersten Tage und ist gewöhnlich bis zum zehnten vollendet.

Die Stickstoffgärung wird noch mehr als die Reduktion des Nitrats von der Zusammensetzung des Nährbodens und den Arteigenheiten der Mikroorganismen beeinflusst. Der *Bac. praepollens* verursacht die Gärung nur in eiweißhaltigen Nährböden, weil er in anderen überhaupt nicht zur Entwicklung gelangt; der *Bac. pyocyaneus* vergärt nach *M a a ß e n* Nitrat schon bei gleichzeitiger Anwesenheit von Pepton, das *Bact. Stutzeri* und *Hartlebi* nach *S a l z m a n n*¹⁾ nur, wenn außer dem Pepton noch Kohlenhydrate, Alkohole und organische Säuren vorhanden sind. Derartige leicht oxydierbare Stoffe begünstigen in jedem Falle die Gärung, doch zeigen sich erhebliche Unterschiede bei den einzelnen Bakterienarten. *J e n s e n s* denitrifizierende Bakterien griffen den Salpeter nicht an, wenn ihnen als einzige Kohlenstoffquelle Glyzerin und Traubenzucker geboten wurde, die fluoreszierenden Bakterien *M a a ß e n s* konnten das dagegen leisten. Das *Bact. Hartlebi* vergor nach *S a l z m a n n* den Salpeter, wenn ihm außer dem Pepton noch ein ameisensaures Salz geboten wurde, das *Bact. Stutzeri* nicht. Oxalsaures Salz als Zugabe reichte bei beiden Bakterien nicht aus, der Prozeß blieb vielmehr bei der Nitritbildung stehen. Von den Kohlehydraten erwiesen sich Hexosen und Pentosen, Disaccharide und Gummiarten bald als brauchbar, bald nicht; Beispiele dafür findet man bei *S a l z m a n n* und *L e m m e r m a n n*²⁾ sowie *K r ü g e r* und *S c h n e i d e w i n d* (S. 396). Über die Bedeutung solcher Nährstoffe für die „indirekte Denitrifikation“ durch Säurebildner vgl. S. 616.

Eine besondere Stellung nehmen die denitrifizierenden Bakterien ein, die organische Stoffe bei ihrer Ernährung entbehren können und statt ihrer Schwefel als Kraftquelle benutzen (§ 210). Nach *S t o k l a s a* (§ 171) lassen die Denitrifikationsbakterien bei gleichzeitigem Vorhandensein von Eiweiß (Leim) oder Asparagin und Salpeter jene verwickelten Stickstoffverbindungen ziemlich unberührt.

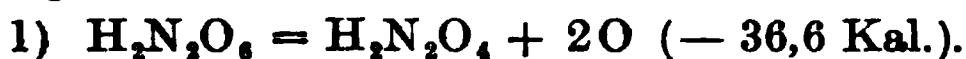
Über den Einfluß des Sauerstoffs auf die Stickstoffgärung lauten die Angaben der einzelnen Forscher nicht gleich. Bei

1) Chemisch-physiologische Untersuchungen usw. Phil. Dissert. Königsberg 1902 (vgl. § 29 ff.).

2) Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge. Habilitat. Jena 1900 mit Literatur.

dem *Bac. praepollens* soll starke Durchlüftung nach Maaßen die Gärwirkung nur wenig beeinträchtigen, bei den fluoreszierenden Bakterien sie jedoch erheblich schwächen. Bei allen Bakterien war sie nach diesem Autor unter völligem Luftabschluß weniger kräftig als bei mäßigem Luftzutritt. Zusatz von chlorsaurem Kali hemmte und verhinderte die Gärung, nicht das Wachstum (vgl. o. S. 607). Andererseits fanden Burri und Stutzer, daß in Kulturen ihres *Bac. denitrificans* die Stickstoffentbindung unterblieb, wenn beständig Luft hindurchgesaugt wurde. Ebenso beobachtete Weisenberg, daß bei Züchtung des *Bac. pyocyaneus* und Stutzeri in dünnen Schichten mit unbeschränktem Luftzutritt die Denitrifikation nicht bis zur Stickstoffgärung fortschritt, sondern bei der Nitritbildung stillstand. Fast alle Forscher machten ferner die Bemerkung, daß ihre Bakterien in Nährböden, die kein Nitrat oder Nitrit enthielten, bei vollständiger Anaërobiose überhaupt nicht wuchsen, in Gegenwart dieser Körper aber sich gut entwickelten und Gärung hervorriefen. Mit anderen Worten: das Leben ohne freien Sauerstoff wird diesen luftliebenden Mikroorganismen erst durch die Stickstoffgärung ermöglicht. Die Reduktion des Salpeters zu Nitrit hatte, wie wir sahen, denselben Einfluß auf diese Aërobier, beide Prozesse verschieden aufzufassen, liegt also wohl kein Grund vor: beide liefern Energie, die Nitratreduktion aber weniger als die Stickstoffgärung des Nitrits.

Die Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure verläuft in wässriger Lösung nach der Formel:



Wollen wir daraus die volle Energiegleichung ableiten, so müssen wir wissen, was aus dem frei werdenden Sauerstoff wird: Offenbar wird er zur Oxydation organischer Stoffe verbraucht, z. B. des Traubenzuckers, Glycerins, Alkohols, der Wein- oder Essigsäure, die den Denitrifikationsbakterien nebenher geboten werden. Wir werden später (§ 227) sehen, daß durchschnittlich 50—60 Kal. dabei für jedes Sauerstoffatom, das verbraucht wird, entwickelt werden. Nehmen wir die Zahl für den Traubenzucker = 56, so haben wir nach Formel 1 einen Überschuß von

$$x = 112 - 36,6 = 75,4 \text{ Kal.}$$

als Wärmewert für die Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure und die Oxydation der Kohlenstoffverbindung durch den frei werdenden Sauerstoff.

Ähnlich haben wir bei der Vergärung der salpetrigen Säure zu Stickstoff:



Hier können wir wieder für 3 O den durchschnittlichen Wärmewert einsetzen, den wir oben für die Oxydation organischer Substanzen durch den freien Sauerstoff ermittelt haben, so bekommen wir einen Überschuß von

$$y = 168 + 6,8 = 174,8 \text{ Kal.}$$

als Wärmewert für die Reduktion der salpetrigen Säure zu Stickstoff und die Oxydation der kohlenstoffhaltigen Verbindung durch den frei werdenden Sauerstoff. Nun vergärt freilich nicht die salpetrige Säure, sondern das Nitrit. Dabei wird das Metall des Nitrits aus seiner Verbindung mit der salpetrigen Säure wohl in Form des Hydroxyds, z. B. KHO in Freiheit gesetzt, wodurch eine gewisse Wärmemenge gebunden wird. An das freie Alkali tritt aber wieder die bei dem Oxydationsprozeß entstandene Kohlensäure oder organische Säure (z. B. Oxalsäure, Zitronensäure) und entwickelt eine entsprechende Wärmemenge. Der Wert für y wird sich also durch die Korrektur nicht wesentlich verändern. Wir hätten danach: $x : y = 75,4 : 174,8$, d. h. die bei der Reduktion der Nitrite entwickelte Energie verhält sich zu der bei der Vergärung des Nitrits zu Stickstoff entwickelten wie 3 : 7. Direkte Messungen der Reaktionswärme liegen noch nicht vor, ebenso fehlt eine Bestimmung der bei der Denitrifikation gebildeten Oxydationsprodukte. Daß hauptsächlich Kohlensäure gebildet wird, weniger organische Säure, ist aus der alkalischen Reaktion zu schließen, die regelmäßig so stark ist, daß sie der Gärung ein Ziel setzt.

Die Reduktion des Nitrats zu Nitrit beruht wahrscheinlich auf einem Enzym, das auch bei höheren Organismen, besonders den Salpetersäure assimilierenden Pflanzen, weit verbreitet ist (L a u r e n t¹⁾). S t e p a n o w²⁾ gelang es, auch mit tierischem Organbrei bei Chloroformzusatz, nicht bei Blausäureanwesenheit, Reduktion von Nitraten nachzuweisen. Versuche mit Bakterien fehlen und die Erfahrungen, die bei anderen Reduktionen gemacht worden sind, lassen sich nicht ohne weiteres auf die hier in Frage stehende übertragen (S. 106, 203, § 161. 205, 214 ff.).

Die enzymatische Natur der Stickstoffgärung ist auch noch zu beweisen. Daß aber die Stickstoffentwicklung aus Nitriten, die W r o b l e w s k i, B u c h n e r und R a p p im H e f e p r e ß s a f t und G o d l e w s k i und P o l s z e n i u s³⁾ bei der anaëroben Kultur keimender Erbsensamen in Salpeterlösung beobachtet haben, ein enzymatischer Vorgang wäre, ist zu bezweifeln. Wahrscheinlich ist es eine einfache chemische Reaktion, bedingt durch das Vorhandensein von Amiden und Säuren im Preßsaft (s. u. S. 617).

§ 199. Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak. Diejenigen Mikroorganismen, die keine Stickstoffgärung hervorrufen, können dennoch das Nitrit zerstören, indem sie es zu Ammoniak reduzieren. Es scheint das der gewöhnliche Weg zu sein, den

1) Annal. Pasteur 1890. 722.

2) Arch. f. exper. Pathologie 47, 411, 1902, vgl. A b e l o u s und G é r a r d, Compt. rend. ac. sc. 129. 56, 1899.

3) Anzeiger Akad. Krakau, Juli 1897.

die Mikroben einschlagen, wenn sie den Stickstoff der Nitrates oder Nitrite zur Assimilation verwenden (vgl. S. 109 ff.). Maaßen (a. a. O. § 197) hat das für eine größere Zahl von Bakterien festgestellt, indem er sie in Nährlösungen züchtete, die Nitrat oder Nitrit allein als Stickstoffquelle enthielten. Dazu eignet sich z. B. die Giltay'sche Lösung, die auf 1000 aq. 2 g Salpeter, 5 g Zitronensäure, 2 g schwefelsaures Magnesium, 2 g Monokaliumphosphat, 0,2 g Chlorkalzium, eine Spur Eisenchlorid und 2 g Zucker oder Glyzerin usw. enthält und natürlich vor der Impfung neutralisiert werden muß. Maaßen verwandte eine ähnliche Lösung, in der die Zitronensäure durch Apfelsäure ersetzt war. Alle 27 Bakterienarten, die in dem Nährboden überhaupt wuchsen, reduzierten das Nitrat zu Nitrit und das Nitrit zu Ammoniak.

Manche von diesen Nitratverzehrern — sie sind Aërobier, verflüssigen Gelatine und bilden teilweise fluoreszierenden Farbstoff — verdienen nach Gerlach und Vogel¹⁾ den Namen „Eiweißbakterien“, weil sie das ihnen gebotene Nitrat wenigstens bis zu 0,3% ohne jeden Verlust in Eiweiß überführen. Nitrit tritt dabei vorübergehend auf, Ammoniak fanden die Autoren nicht, wohl weil es zu schnell verbraucht wird. Auffallend ist es, daß dieselben Bakterien Ammonsulfat oder -karbonat, das ihnen statt des Nitrats geboten wird, nicht so vollständig, sondern nur zu 12—48% assimilieren. Vielleicht liegt es daran, daß die Gegenwart größerer Mengen von Ammonsalzen die Eiweißbildung hemmt, wie Mazé²⁾ für höhere Pflanzen und Winogradsky für Nitratbakterien nachgewiesen haben (S. 604). Ein besonderes Gewicht möchten wir auf die von Gerlach und Vogel nicht betonte Tatsache legen, daß diese Bakterien ihr Eiweiß mit dem geringsten Aufwand von stickstofffreien Nährstoffen aufbauen. So genügten 5 g Zucker im Liter der Nährlösung, um den Stickstoff von 3 g Natriumnitrat in Eiweißstickstoff umzuwandeln. Das ist eine Leistung, die andere Bakterien und selbst Schimmelpilze kaum fertig bringen (§ 232 ff.). Wir werden allerdings weiter unten, wenn wir die Energiebilanz dieser Stoffwechselvorgänge aufstellen, sehen, daß sich dabei Schwierigkeiten ergeben.

Auch diejenigen Bakterien, die Stickstoffgärung hervorrufen, bilden nebenher Ammoniak, allerdings nur spurenweise, denn der Hauptteil des Nitrats verfällt hier der Gärung. Ob dabei ein Teil des assimilierten Stickstoffs als organische Stickstoffverbindung von den Bakterien ausgeschieden wird, wie es Burri und Stutzer u. a.

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 17/18, 1901.

2) Annal. Pasteur 1900. 26.

wollen, ist nach M a a ß e n zweifelhaft. Einige Autoren haben den Versuch gemacht, eine Stickstoffbilanz aufzustellen. So fanden P f e i f f e r und L e m m e r m a n n ¹⁾ bei der Stickstoffgärung ihres *Bac. denitrificans* in Giltayscher Lösung 89,3 % des Salpeterstickstoffs in freiem Stickstoff, 11,95 % in der Gärflüssigkeit und den Bakterienleibern wieder. Nach S a l z m a n n (S. 610) assimilierte das *Bact. Hartlebi* in einer ähnlichen Lösung etwa 13 % des Salpeterstickstoffs, während der Rest als Gas entbunden wurde. In Nährböden, die außer dem Salpeter noch andere Stickstoffquellen, z. B. Pepton enthalten, kann der Stickstoff des Salpeters bis zu 100 % in Freiheit treten. Der Salpeter dient daher in diesem Falle ausschließlich als Kraftquelle, nicht zur Assimilation.

O b a u c h die A m m o n i a k b i l d u n g b e i d e n j e n i g e n M i k r o o r g a n i s m e n, d i e n i c h t f ä h i g s i n d z u r S t i c k s t o f f g ä r u n g, e i n e K r a f t q u e l l e d a r s t e l l e n k a n n, i s t z w e i f e l h a f t, d a n a c h M a a ß e n g r ö ß e r e M e n g e n v o n A m m o n i a k i n d e n K u l t u r e n n i c h t a n g e h ä u f t w e r d e n, s o n d e r n a n s c h e i n e n d i m m e r n u r e t w a s o v i e l a u s d e m N i t r a t e n t s t e h t, w i e z u r A s s i m i l a t i o n v e r b r a u c h t w i r d. D o c h h a b e n M a a ß e n u n d s c h o n v o r i h m L ö w ²⁾ u n d D i e u d o n n é ³⁾ g e f u n d e n, d a ß a u c h i n e i w e i ß h a l t i g e n N ä h r l ö s u n g e n d a s N i t r i t v o n v i e l e n B a k t e r i e n o h n e S t i c k s t o f f e n t w i c k l u n g a u f g e z e h r t, a l s o w o h l i n A m m o n i a k v e r w a n d e l t w i r d. V o n 109 g e p r ü f t e n M i k r o o r g a n i s m e n l i e ß e n 50 i n P e p t o n l ö s u n g m i t 0,01 % N i t r i t d a s N i t r i t v e r s c h w i n d e n, n u r 4 u n t e r S t i c k s t o f f e n t w i c k l u n g. D i e F ä h i g k e i t, d a s N i t r i t z u r e d u z i e r e n, w a r a u c h e i n z e l n e n B a k t e r i e n e i g e n, d i e N i t r a t e n i c h t r e d u z i e r e n k o n n t e n, z. B. d e m *Bac. praepollens*, *megatherium* u n d *mesentericus vulgatus*, u n d u m g e k e h r t r e d u z i e r t e n 41 A r t e n d a s N i t r a t u n d n i c h t d a s N i t r i t. D a b e i d i e s e r A m m o n i a k b i l d u n g, i n G e g e n w a r t v o n E i w e i ß s t o f f e n, e i n e n a c h t r ä g l i c h e A s s i m i l a t i o n w o h l k a u m i n B e t r a c h t k o m m t, s o k ö n n t e m a n v o n e i n e r „A m m o n i a k g ä r u n g“ d e s N i t r a t s s p r e c h e n. M ö g l i c h w ä r e s i e d e s w e g e n, w e i l b e i d e r R e a k t i o n e i n e b e t r ä c h t l i c h e M e n g e W ä r m e f r e i w ü r d e.

Die Reaktion verläuft vielleicht in folgender Weise:



Durch die Verbrennung von kohlenstoffhaltigen Verbindungen, z. B. von Zucker mittelst der 6 Atome Sauerstoff, würden entwickelt (S. 611) 336 Kal., wir gewännen also aus der Vergärung des Nitrits zu Ammoniak:

$$z = 336 - 158 = 178 \text{ Kal.}$$

1) Landwirtsch. Versuchsstat. 50. 118, 1898.

2) Ber. chem. Gesellschaft. 1890, 675.

3) Arbeit. Gesundheitsamt 11. 508, 1895.

Also wäre die Ammoniakbildung wirklich eine gute Kraftquelle für die Mikroorganismen, natürlich nur dadurch, daß der bei der Reduktion frei werdende Sauerstoff energische Oxydationen vollbringt.

Wenn wir uns die Reduktion entstanden denken durch Einwirkung freien Wasserstoffs auf das Nitrit, so würde noch mehr Wärme gebildet werden. Der Prozeß der Wasserstoffbildung führt aber, wie wir bei Gelegenheit der Milchsäure- und Buttersäuregärungen gesehen haben, immer wieder auf die Spaltung des Wassers zurück, die unter Bindung von viel Wärme verläuft. Es ist also am einfachsten, die Formel 3 zum Ausgangspunkt zu nehmen.

Mit Hilfe der Gleichung 3 und 1 auf S. 611 können wir auch eine Stoff- und Kraftbilanz der oben genannten Eiweißbakterien von Gerlach und Vogel aufstellen. Wenn 3 g Natriumnitrat NaNO_3 , 5 g Traubenzucker entsprechen, kommen auf 85 g Natriumnitrat (= 1 Grammolekül) 142 g Zucker. Aus 85 mgr NaNO_3 werden durch Reduktion 17 g NH_3 . Dabei werden 16 g Sauerstoff (1 Atom nach Gleichung 1) für die Reduktion des Nitrats zu Nitrit und $3 \times 16 = 48$ g Sauerstoff (3 Atome nach Gleichung 3) für die des Nitrits zu Ammoniak, im ganzen also $4 \times 16 = 64$ g O frei d. h. etwa soviel, wie zur vollständigen Verbrennung von 60 g Traubenzucker ($\frac{1}{2}$ Grammolekül) nötig sind. Es bleiben also übrig 82 g Zucker zum Aufbau des Eiweißes aus 17 g Ammoniak. Diese genügen aber nicht, sondern es ist nach § 231 erheblich mehr Zucker nötig. Es müßte sich also entweder um ein abnorm zusammengesetztes, d. h. besonders stickstoffreiches Eiweiß handeln, oder um Fehler in den Berechnungen von Gerlach und Vogel. Den Nachweis, daß wirklich Eiweiß gebildet und in den Körpern der Bakterien festgelegt war, suchten die Forscher dadurch zu führen, daß sie die Abwesenheit von Nitraten, Nitriten und Ammoniak in der ausgewachsenen Kultur feststellten und den Stickstoff sowohl in der filtrierten als unfiltrierten Kultur durch das Kjeldahlsche Verfahren bestimmten. Das Filter hielt den Stickstoff, der dem des dargebotenen Natriumnitrats entsprach, bis auf Spuren zurück.

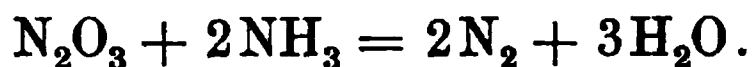
Eine Nachprüfung der Versuche von Gerlach und Vogel wäre erwünscht.

§ 200. Entwicklung von Stickstoffoxyden. Bedeutung der Stickstoffentbindung. Mit den bisher besprochenen drei Fällen der Reduktion des Nitrats zu Nitrit, Stickstoff und Ammoniak, haben wir noch nicht alle Möglichkeiten der Umwandlung der Oxyde des Stickstoffs erschöpft. Schon lange bekannt, wenn auch nicht richtig gedeutet, war die sogenannte „Salpetersäuregärung“ der Melasse, bei der sich aus dieser rotbraune Dämpfe von Stickstoffdioxid (NO_2) entwickeln¹⁾, ferner sahen schon Schlösing, Déhérais und Maquenne, Gayon und du Petit u. a. (S. 607) bei der Zersetzung des Salpeters gelegentlich auch die niederen Oxydationsstufen, das Stickoxyd (NO) und Stickoxydul (N_2O) erscheinen. Maassen (S. 607) gelang es denn auch, durch viele Reinkulturen

1) Dubrunfaut, Compt. rend. ac. sc. 66. 275, 1868, vgl. Laffar, Technische Mykologie S. 279. Erreger sind wohl die „Semiclostridien“ (S. 406).

zwar nicht das letzte Gas, aber Stickoxyd zu erzeugen, wenn er sie in Peptonlösungen züchtete, die neben 0,2—0,5 % Salpeter noch 0,5 bis 5 % Glyzerin, Mannit oder Zuckerarten enthielten.

Unter 100 Bakterienarten waren 31 imstande, nicht nur Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, sondern auch noch das Nitrit zu Stickstoff und Stickoxyd zu vergären. Die Gärung erfolgte im Gegensatz zu der in § 198 besprochenen Stickstoffgärung langsam, die Gasbildung begann im Gasröhrchen meist erst am 3. Tage, manchmal am 10. Tage und noch später sichtbar zu werden. Stickoxyd wurde dabei immer nur in geringer Menge gebildet und dadurch nachgewiesen, daß besonders bei Säurezusatz Gelbfärbung der Flüssigkeit und schwache Gasentwicklung eintrat. Nach Maaßen wäre diese neue Art der Denitrifikation nicht abhängig von dem Sauerstoff und auch nicht von dem Vermögen der Bakterien, Glyzerin, Mannit usw. zu vergären, wie es K. Wolf¹⁾ für den *Bac. coli*, gewisse Heubazillen u. a. m. angenommen hatte; doch meint der Autor hiermit nur die Gärung mit Gasentwicklung, denn er selbst schreibt ebenso wie Weissenberg²⁾ der Säurebildung, oder wie man auch sagen kann, der „sauren Gärung“ die Hauptrolle bei dem Prozeß zu. In der Tat gehören lauter Säurebildner hierher, so der *Bac. coli*, *aërogenes*, *Typhus*, *Paratyphus*, der *Bac. proteus vulgaris* und *mirabilis*, der *prodigiosus*, *Kiliensis*, *mesentericus* und die ihm verwandten *Semiclostridien* (S. 406). Durch die saure Reaktion unterscheidet sich diese „indirekte Denitrifikation“ (Grimbert) von der echten Stickstoffgärung, die, wie wir gesehen, stets viel Alkali bildet. Die Wirkung der Säure ist zunächst die, daß die salpetrige Säure aus dem Nitrat in Freiheit gesetzt wird. Zeigt diese schon von selbst Neigung zum Zerfall in Stickoxyd und Stickstoffdixyd, so wird eine andere Zersetzung durch die Gegenwart von Ammoniak verursacht: die salpetrige Säure setzt sich mit ihm — nach Kern³⁾ schon bei gewöhnlicher Temperatur — um in freien Stickstoff und Wasser nach der Formel:



Daß die salpetrige Säure Ammoniak in der Nährlösung antrifft, dafür ist gesorgt, da es sowohl durch Reduktion aus der salpetrigen Säure selbst gebildet (§ 199), als aus dem Pepton abgespalten wird (§ 171 u. 174). Weil die saure Reaktion erst den Vorgang einleitet, kann er durch die

1) Hyg. Rundschau 1899. 23.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 166, 1902.

3) Landwirtschaftl. Versuchsstat. 24. 368, 1880; vgl. auch Dietz-
zell, Ber. chem. Gesellsch. 1882, 551, mit Lit.

Anwesenheit von reichlichen Mengen von Kalziumkarbonat im Nährboden geschwächt oder unterdrückt werden. Unter Umständen soll freilich nach M a a ß e n die Stickstoffentwicklung auch bei alkalischer Reaktion weitergehen. Ein näheres Studium wird vielleicht auch das aufklären. Jedenfalls läßt sich auf das Freiwerden von salpetriger Säure noch eine andere Tatsache zurückführen. G r i m b e r t ¹⁾ hatte schon vor M a a ß e n gefunden, daß der Bac. coli und typhi, also zwei der obengenannten Säurebildner in einer Nährlösung, die nicht nur Salpeter und Pepton, sondern auch a m i d a r t i g e K ö r p e r, z. B. aus dem F l e i s c h e x t r a k t, enthielt Stickstoff, und zwar mehr entwickelten, als dem zerstörten Salpeter entsprach: die nähere Untersuchung machte es wahrscheinlich, daß die salpetrige Säure ihn durch eine ähnliche Reaktion mit den Amiden erzeugt hatte, wie mit dem Ammoniak. Bekannt ist auch diese Umsetzung den Chemikern schon seit lange²⁾. Da im Fleischextrakt auch Zucker vorhanden ist, so ist damit die Möglichkeit einer Säurebildung und Entbindung der salpetrigen Säure aus dem Nitrit gegeben. In solcher Weise kommt auch vielleicht die Bildung freien Stickstoffs bei der F ä u l n i s zustande (vgl. S. 560).

Ähnlich scheint sich die Stickstoffentwicklung zu erklären, die nach W r o b l e w s k i ³⁾, B u c h n e r und R a p p ⁴⁾ salpetrigsaures Salz im H e f e p r e ß s a f t hervorruft. 20 ccm des letzteren lieferten mit 1 g Natriumnitrat binnen 4 Tagen bei 20° 75 ccm reinen Stickstoff. Durch die saure Reaktion des Saftes wird dabei N₂O₃ entbunden, der sich mit den Amiden (Leuzin, Tyrosin) der Hefe in Stickstoff umsetzt.

Nach alledem hat man wohl diese indirekte Stickstoffgärung oder Denitrifikation als einen rein chemischen Prozeß anzusehen, der mit der echten Stickstoffgärung als einem rein biologischen, vielleicht enzymatischen Vorgang, nichts zu tun hat. Die Mikroorganismen, die sie hervorrufen, können durch eigene Kraft nur das Nitrat zu Nitrit und allenfalls zu Ammoniak reduzieren; nur wenn sie zufällig nebenher noch aus anderen Stoffen Säure bilden, kann das Bild der Stickstoffgärung vorgetäuscht werden.

Auf die wirtschaftliche Bedeutung, welche die Denitrifikation haben könnte, hat sich bald die allgemeine Aufmerksamkeit gerichtet. Liegt es doch anscheinend auf der Hand, daß die denitrifizierenden

1) Annal. Pasteur 1899.

2) Vgl. Anm. 3 auf S. 616.

3) Zentr. Physiol. 1899. 284.

4) Ber. chem. Ges. 1901. 1563.

Bakterien im gedüngten Erdboden große Stickstoffverluste bedingen müssen¹⁾. Die weitere Bearbeitung²⁾ dieser Frage hat diese Voraussetzung nicht recht bestätigt. So große Mengen Mist, wie sie im Laboratoriumsversuch die Denitrifikation einzuleiten vermögen, werden eben von der Landwirtschaft kaum angewandt. Daran ändern wohl auch nichts die neuesten Versuche *Sewerins* (s. o. S. 609). Eine Denitrifikation im Mist selbst kommt schon deswegen nicht in Frage, weil der Mist keinen Salpeter zu enthalten pflegt. Um so bedeutsamer ist hier der Stickstoffverbrauch durch Ammoniakverdunstung³⁾. Übrigens ist die früher von *Winogradsky* aufgestellte Theorie, nach der das reichliche Einbringen von organischen Stoffen in den Boden, das für die Entwicklung der Denitrifikation Vorbedingung ist, die Nitrifikation aufheben müßte, also auch in dieser Beziehung sich ein Kampfverhältnis zwischen Nitrifikation und Denitrifikation ergebe, ebenfalls durch die neueren Arbeiten nicht bestätigt worden (s. o. S. 605). Theoretisch könnten beide Prozesse ganz gut nebeneinander im Boden bestehen.

§ 201. Bindung freien Stickstoffs. Knöllchenbakterien. Daß viele Kleinwesen aus den einfachsten Stickstoffverbindungen, wie aus Ammoniak, salpetriger Säure und Salpetersäure ihr Eiweiß aufzubauen vermögen, haben wir schon wiederholt (§ 32, 196 u. 199) gesehen. Ebenso gibt es aber eine Ernährung durch freien Stickstoff. Hier interessieren uns zunächst die Bedingungen, die dafür gelten. In Betracht kommen nach unserer kurzen Übersicht auf S. 113 vor allem die Knöllchenbakterien der Schmetterlingsblütler, die Wurzelpilze der Bäume (§ 202) und die stickstofffixierenden Erdbodenkeime, namentlich das *Clostridium Pastorianum* und *Azotobacter chroococcum* (§ 203). Die Geschichte der ersteren⁴⁾ ist ebenso alt wie interessant. Schon bei römischen landwirtschaftlichen Schriftstellern findet sich die Bemerkung, daß Lupine und Wicke keines Düngers zu ihrer Entwicklung bedürften und ihrerseits, grün untergepflügt, selbst als Dünger dienen könnten. Die praktische Erfahrung hat das auch immer wieder bestätigt, die Erklärung dafür aber wurde erst in den letzten Jahrzehnten erbracht. Allerdings hatten schon bald nach

1) *Wagner*, Deutsch. landwirtsch. Presse 1895, vgl. aber auch Landwirtschaftl. Versuchsstation 48. 267, 1897.

2) S. bei *Pfeiffer* und *Lemermann*, ebenda 50, 1898.

3) Vgl. aber darüber *Déhérain* in *Kochs Jahresber.* 1898 und 1899.

4) Vgl. *Remy*, Stickstoffbindung durch Leguminosen. Verh. Ges. Naturf. u. Ärzte 74. Vers. Carlsbad 1. 200, 1903. *Hiltner* in *Lafars Handb.* 3, 1904.

der Entdeckung des Stickstoffs verschiedene Forscher die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß höhere Pflanzen den freien Stickstoff assimilieren könnten, die Versuche B o u s s i n g a u l t s aus dem Jahre 1838¹⁾ hatten auch schon bewiesen, daß Erbsen und Klee „den Stickstoff fixierten“, während Getreidearten dazu nicht imstande wären, dennoch gelangte später unter dem Einfluß B o u s s i n g a u l t s selbst, L i e b i g s u. a. die Lehre wieder zur Alleinherrschaft, daß die Pflanzen ihren Stickstoffbedarf nur aus Verbindungen wie Ammoniak oder Salpetersäure decken könnten. Erst die Erfahrungen S c h u l t z'-Lupitz, eines praktischen Landwirts, lenkten die Aufmerksamkeit der Forschung wieder auf das Problem, das dann in der Hauptsache durch H e l l r i e g e l²⁾ und W i l f a r t h gelöst wurde. Sie zeigten in mühevollen Laboratoriumversuchen, daß Erbsen in sterilisierten stickstoffarmen Boden eingesät und später vor Infektion bewahrt, bald an Stickstoffhunger zugrunde gingen, hingegen gut gediehen und eine stickstoffreiche Ernte brachten, wenn dieselbe Erde vorher mit einer geringen Menge einer Aufschwemmung von fruchtbarem Boden geimpft worden war. Daß diese „Impfung“ nur durch die lebenden Mikroorganismen, die sie in den Boden hineinbrachte, wirkte, wurde dadurch bewiesen, daß der Erfolg ausblieb, wenn die Bodenaufschwemmung vorher sterilisiert war. Gleichzeitig machten H e l l r i e g e l und W i l f a r t h die Beobachtung, daß die Wurzeln der gut entwickelten Erbsenpflänzchen mit knöllchenförmigen Auswüchsen besetzt waren und daß deren Bildung um so reichlicher war, je mehr Stickstoff die Pflanzen der Luft entnommen hatten. Diese Wurzelknöllchen waren allerdings schon seit dem 17. Jahrhundert als eine Eigentümlichkeit der Schmetterlingsblütler bekannt und seitdem viel studiert worden. Ihre Bedeutung war besonders rätselhaft geworden, seitdem W o r o n i n³⁾ nachgewiesen hatte, daß sie regelmäßig massenhaft lebende Bakterien enthielten. Gerade zur Zeit, als H e l l r i e g e l und W i l f a r t h ihre Versuche anstellten, hatte B r u n c h o r s t⁴⁾ zwar die Bakteriennatur dieser Gebilde wegen ihrer unregelmäßigen, oft verzweigten Form bestritten und sie als geformte Eiweißkörper bezeichnet, denen er den Namen der B a k t e r o i d e n gab. Das war natürlich jetzt sehr unwahrscheinlich geworden. Es gelang denn auch bald danach B e i j e r i n c k⁵⁾ die Knöllchenbakterien, den Bac.

1) Ann. chim. phys. 67. 1 und 69. 353.

2) Tagebl. Naturf. Vers. 1886, Beilageheft zur Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1888.

3) Mém. ac. impér. Pétersbourg 7. sér. 10, 1866.

4) Ber. botan. Gesellsch. 1885. 241.

5) Bot. Zeitg. 1888, 725.

radicicola (*Rhizobium Leguminosarum* Frank) in Reinkultur zu züchten, und Prazmowski¹⁾, mit solchen Kulturen die Knöllchen experimentell hervorzurufen. Trotz mancher Widersprüche in Einzelheiten wurden die wesentlichen Tatsachen in der Folge allenthalben bestätigt²⁾ und durch viele neue Beobachtungen, die namentlich die Morphologie und Biologie der Knöllchen betrafen, ergänzt. Über die wichtigste Frage, wie die Bindung des Stickstoffs zustande käme, ob die Bakterien selbst sie, unabhängig von den Wirtspflanzen, besorgten, oder ob sie diese dazu anregten, oder sie selbst durch den Einfluß der Wirte angeregt würden, konnte man nur mehr oder weniger wahrscheinliche Vermutungen hegen, bis Mazé⁴⁾ auch diese Frage wenigstens anscheinend zur Entscheidung brachte. Während seine Vorgänger in Reinkulturen der Knöllchenbakterien keinen ganz unzweifelhaften Stickstoffgewinn erzielen konnten⁴⁾, gelangte der französische Forscher dazu, indem er sie bei reichlichem Sauerstoffzutritt (Überleitung eines Luftstroms) in Nährböden züchtete, die außer 2% Rohrzucker und Salzen auch noch geringe Mengen (150—300 mg im Liter) Stickstoff enthielten. Bei völliger Abwesenheit von Stickstoffverbindungen und Sauerstoff wuchsen die Bakterien überhaupt nicht. Beispielsweise gewann Mazé aus etwa 200 ccm Agarkultur, die vor der Entwicklung der Bakterien 62 mg Stickstoff enthielt, nach 14tägiger Züchtung 103 mg. 41 mg oder 200 mg im Liter waren also aus dem Stickstoff der Luft fixiert worden. Natürlich war durch Vorschaltung von Waschflüssigkeiten dafür Sorge getragen, daß mit der Luft keine Stickstoffverbindungen, wie Ammoniak und salpetrige Säure in die Kulturen gelangen konnten. Gleichzeitig war der gesamte Zucker des Nährbodens verschwunden, und zwar, wie sich in besonderen Versuchen herausstellte, zum größten Teil zu Kohlensäure und Wasser verbrannt. Ein kleiner Teil mag wohl in das statliche Schleimlager, das die Bakterien gebildet hatten (S. 408) übergegangen sein. Das Gewicht und die Zusammensetzung dieser Bakteriensubstanz hat Mazé leider nicht ermittelt, ebensowenig die Form, in der der Stickstoff ursprünglich im Nährboden enthalten war; daher kann eine genaue Stoffwechsel- und Energierechnung nicht aufgestellt werden. Er selbst berechnet das Verhältnis des aus der Atmosphäre entnom-

1) Landwirtschaftl. Versuchsstat. 37 und 38, 1890.

2) Beijerinck, Bot. Zeitg. 1890. 837; Frank, Landwirtsch. Jahrb. 1890; Nobbe, Schmid, Hiltner und Hotter, Landwirtsch. Versuchsstat. 39, 1891; Schlösing und Laurent, Compt. rend. 111. 750, 1890; Laurent, Annal. Pasteur 1891.

3) Annal. Pasteur 1897 und 1898.

4) Vgl. Beijerinck, Kochs Jahresber. 1892. 205.

menen Stickstoffs zu dem verbrauchten Zucker auf 1 : 100. Wahrscheinlich ist diese Zahl zu hoch, immerhin ist nicht zu bezweifeln, daß die Assimilation des freien Stickstoffs in diesen Versuchen einen verhältnismäßig großen Aufwand an Energie erforderte. Da aber das nötige Brennmaterial in Gestalt von Kohlenhydraten in den Wirtspflanzen reichlich zur Verfügung steht, könnte der Prozeß der Stickstofffixierung in den Knöllchen ähnlich verlaufen wie in den Reinkulturen. Allerdings fragt es sich noch, ob die Stickstoffmenge, die im großen durch den Anbau der Leguminosen fixiert wird, d. h. etwa 150 kg auf den Hektar von den Knöllchenbakterien geliefert werden kann, wenn wir die von M a z é erhaltenen Zahlen zugrunde legen. Es fielen danach auf den Quadratdezimeter Bodenoberfläche oder auf 1—2 Liter Boden 150 mg Stickstoff. Die günstigste Zahl von M a z é betrug 200 mg auf den Liter Reinkultur. Da nur ein kleiner Teil des Bodens von den Knöllchen eingenommen wird, so würden also die Bakterien innerhalb der Knöllchen eine viel energischere Tätigkeit entfalten müssen als in den Kulturen.

Die M a z é'schen Ergebnisse sind später von Hiltner angefochten worden, da Verunreinigung mit anderen sicher stickstoffbindenden Bakterien (§ 203) vielleicht nicht ausgeschlossen sei und die eigenen Versuche von Hiltner und Störmer¹⁾ keinen Stickstoffgewinn ergaben. Es bleiben hier also noch Lücken auszufüllen.

Über das Eindringen von Knöllchenbakterien in die Wirtspflanzen, die Entstehung der Knöllchen und ihre Verwertung für die Stickstoffernährung der Pflanzen wird in der Infektionslehre ausführlicher zu sprechen sein²⁾. Hier sei nur vorweggenommen, daß das Eindringen mit Hilfe eigentümlicher schleimiger Bildungen, die wir schon früher erwähnt (S. 408 u. 414), der sogenannten „Infektionsfäden“, erfolgt, die Knöllchen selbst, wie andere durch Parasiten hervorgerufene Bildungen (z. B. Gallen) zum Teil als Reaktionsprodukte der Pflanzen anzusehen sind, die Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch die Bakterien nicht mit der Vermehrung beginnt, sondern wahrscheinlich eng zusammenhängt mit der Umbildung zu den Bakteroiden (N o b b e und Hiltner³⁾). Gerade weil das übrigens so ist, und die Bakterienumbildungen auch in Reinkulturen beobachtet werden können (s. u.), sollte man erwarten, auch hier der Stickstoffbindung zu begegnen (s. o.). Allerdings machen Hiltner und Störmer darauf auf-

1) Arbeit. biol. Abt. K. Gesundheitsamts 3. 151, 1903.

2) Vgl. aber das unten über Virulenz Gesagte.

3) Landwirtschaftl. Versuchsstat. 51, 1898.

merksam, daß das wesentliche an der Bakteroidenbildung nicht die Verzweigungen sind (vgl. S. 9), sondern **Änderungen im protoplasmatischen Inhalt**, die man erst mikrochemisch nachweisen kann. Es treten bei reichlicher Gegenwart von stickstofffreier Nahrung nämlich Vakuolen auf, und das Plasma sondert sich einerseits in einen Karbolfuchsin stark aufnehmenden und mit Jodtinktur rotbraun werdenden, lichtbrechenden Teil (Glykogen), andererseits in einen schwach färbbaren, mit Jod gelb werdenden Bestandteil. Der chromatische Teil der Bakteroiden, der öfters förmliche Sprossen an ihnen bildet, soll es nun auch nach **Hiltner und Störmer** sein, der von den Wirtspflanzen resorbiert wird und in irgendeiner bisher noch dunklen Weise zu der Stickstoffbildung beiträgt.

Über den Chemismus der Stickstoffassimilation ist nichts bekannt. Nehmen wir als einfachsten Fall an, daß Ammoniak das erste Zwischenprodukt wäre, so hätten wir die Gleichung



Die drei dabei freiwerdenden Sauerstoffatome würden durch Verbrennung von Zucker mehr Wärme erzeugen, als bei der Reaktion gebunden wird. Zum weiteren Aufbau von Eiweiß aus Ammoniak ist, wie wir bei den Eiweißbakterien sahen (S. 615), auch keine erhebliche Menge Zucker nötig. Der riesige Verbrauch, den **Mazé** konstatiert hat, kann sich also nur dadurch erklären, daß der Prozeß der Stickstofffixierung viel weniger sparsam verläuft, als hier angenommen. — Wieweit Enzyme dabei in Betracht kommen, bleibt noch festzustellen.

Die **Reinkultur**¹⁾ der Knöllchenbakterien gelingt ziemlich leicht auf Pflanzenabkochungen, z. B. von Erbsen mit Zuckerzusatz (0,4%); Asparagin ist nicht nötig, aber nützlich. Auch sind Nitrate, weniger gut Ammoniaksalze, als Stickstoffquelle zulässig bzw. nützlich (**Mazé**). Saure Reaktion und eine Temperatur von 35° begünstigen nach **Stutzer** die Entstehung von Bakteroiden, die übrigens auch schon von **Beijerinck** auf festen Nährböden gesehen wurden. Die Hauptsache ist aber wohl, wie **Hiltner und Störmer** angeben, ein großer Überschuß an kohlenstoffreichem Nährmaterial, zu dem sich nebenbei alle möglichen Kohlenhydrate und organischen Säuren eignen²⁾. Am besten werden zur Aussaat junge, noch nicht zerfallene Knöllchen benutzt; man sterilisiert sie durch Sublimat, zerquetscht sie nach gründlichem Abspülen und streicht

1) Die Angaben **Gonnermanns** über den *Bac. tuberigenes* (Landwirtsch. Jahrb. 1894) haben vor der Kritik nicht standgehalten. Neuerdings übt wieder **de Rossi** (Zentr. Bakt. 2. Abt. 18. 289, 1907) an den bisherigen Versuchen Kritik und will die von ihm gezüchteten Bakterien als die allein richtigen anerkannt wissen. Insofern hat er wohl recht, als die bisherigen Beschreibungen keineswegs ein einheitliches und ganz klares Bild ergeben. Die von **Rodella** (ebenda 18. 455) als Knöllchenbakterien beschriebenen Anaeroben sind wohl nur gelegentliche Verunreinigungen.

2) Vgl. auch **Neumann**, Landwirtschaftl. Versuchsstat. 56, 1901.

sie auf Platten aus. Manche Forscher geben an, daß die Bakterien allmählich auch an die gewöhnlichen Fleischnährböden gewöhnt werden können, doch wachsen sie ursprünglich nicht darauf. Die großen Veränderungen der morphologischen und physiologischen Eigenschaften, die M a z é den Bakterien zuschreibt, sind mit Mißtrauen zu betrachten.

Was die Artenfrage anlangt, so war es durch die gleich zu besprechenden Versuche von N o b b e und H i l t n e r sehr wahrscheinlich geworden, daß die Knöllchenbakterien der einzelnen Leguminosen nur Anpassungen einer und derselben Art an verschiedene Wirtspflanzen sind. Indessen nimmt H i l t n e r ¹⁾ auf Grund des verschiedenen Verhaltens zu festen Nährböden zwei Arten an, das *Rhizobium Beijerinckii* (von Lupinen, Serradellen, Sojabohnen), das nur auf Agar, das *Rhizobium radicicola*, das auch auf Gelatine wächst.

Zu den Infektionsversuchen an lebenden Pflanzen gewinnt man nach B u h l e r t ²⁾ ein reines und doch keimfähiges Ausgangsmaterial, indem man die Samen der Leguminosen, z. B. Erbsen, 5 Minuten lang mit 0,2prozentigem Sublimat und einer Bürste behandelt, dann in Alkohol abwäscht und diesen abbrennt. Die Aussaat erfolgt in Erde oder Sand, die man in hohen Flaschen sterilisiert und mit Nährlösungen (z. B. aq. dest. 1000, Magnesium-, Kalium-, Kalziumsulfat, Kalziumphosphat und Chlornatrium je 0,5, Eisensulfat 0.01) tränken kann. Man impft die Knöllchenbakterien entweder in die Nährböden, oder man benetzt die Samen oder die vorher ausgekeimten Würzelchen mit einer Aufschwemmung. Das Auskeimen bewirkt man in Reagensröhrchen, die zu $\frac{1}{3}$ mit destilliertem Wasser gefüllt und mit zwei Wattepfropfen verschlossen sind. Den unteren, lockeren stößt man in die Flüssigkeit hinunter und legt auf ihm die Samen aus. Durch zahlreiche solche Impfversuche ermittelten N o b b e ³⁾ und seine Mitarbeiter, namentlich H i l t n e r zunächst, daß die Knöllchenbakterien, die von einer Pflanzenart abstammten, die günstigsten Ernten erzeugten, wenn sie auf dieselbe Art verimpft wurden, bei anderen Arten aber wesentlich schwächer oder gar nicht wirkten. Allerdings bestehen Unterschiede insofern, als sich einerseits z. B. die Bakterien der Pisum- und Viciaarten mehr oder weniger gut gegenseitig vertreten können, andererseits das nicht einmal möglich ist zwischen den Bakterien der einzelnen Trifolium- und Lupinusarten. Die Knöllchenbildung braucht dabei nicht zu fehlen, so erzeugen die Pisumbakterien bei Phaseolus stets Knöllchen, fördern ihre Entwicklung aber nicht, und entsprechend verhalten sich die Phaseolusbakterien gegenüber Pisum. Durch fortgesetzte Kultur gelang es aber gerade mit den Erbsenbakterien nicht bloß bei den Bohnen Knöllchen, sondern auch Stickstoffansatz zu erzielen. Da gleichzeitig auf Phaseolus überpflanzte Pisumbakterien auch ihre Wirksamkeit für die ursprünglichen Mutterpflanzen verloren hatten, konnten N o b b e und H i l t n e r mit Recht von wechselnden Anpassungen der Pisumbakterien an ihre Wirtspflanzen sprechen und mit Wahrscheinlichkeit die beob-

1) Arb. biol. Abt. Gesundheitsamt 1, 1900; vgl. H i l t n e r und Störm e r a. a. O.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 234 (mit Lit.).

3) Landwirtsch. Versuchsstat. 39, 1891; 42, 1893; 45, 1894; 51, 1898; Zentr. Bakt. 6. 449, 1900.

achteten Unterschiede zwischen den einzelnen Knöllchenbakterien¹⁾ auf derartige Anpassungen zurückführen. B u h l e r t (s. o.) bestätigt diese Auffassung durch seine Versuche und H i l t n e r entwickelte dann 1900, gestützt auf alte und neue Versuche, zum Teil mit S t ö r m e r (s. o.) seine Theorie der wechselnden Virulenz der Knöllchenbakterien. Nach ihm kann man folgende Abstufungen derselben unterscheiden:

1. Die Bakterien vermögen überhaupt nicht in die Wurzeln einzudringen (z. B. bei Impfung von Bohnenpflanzen mit Rotkleeerbakterien). Nach H i l t n e r mangelt es den Bakterien dabei an einem enzymatischen Stoff, welcher der Membran der Wurzelhaare der Bohnen gallertige Beschaffenheit verleihe und dadurch den Bakterien erst das Eindringen ermögliche. Da Kleeerbakterien derselben Reinkultur in Kleewurzeln sofort eindringen, so ergibt sich daraus, daß nicht das Enzym, der „Angriffsstoff“ der Bakterien, an sich fehlt, sondern nur das auf Bohnen wirkende. Das letztere kann aber durch Anpassung erworben werden.

2. Die Bakterien dringen zwar in die Wurzeln ein und erzeugen kleine Wurzelknöllchen, werden aber sofort resorbiert (Impfung von Lupinen in Wasserkultur mit sehr schwach virulenten Lupinenbakterien).

3. Die Bakterien dringen zwar in die Wurzeln ein und erzeugen auch entwickelte Knöllchen; bei ihrer mikroskopischen Untersuchung zeigt sich aber, daß sie nur wenige Bakteroiden enthalten und meist aus einem bakterienfreien Gewebe bestehen, in dem die Zellkerne eine auffallende Größe besitzen und sich mit Jod rotbraun färben. Nach H i l t n e r hat hier unter Beteiligung der Kerne eine Resorption der Bakterien stattgefunden (Bohnen mit Erbsenbakterien geimpft s. o.). Solche Knöllchen kommen aber auch unter natürlichen Verhältnissen überall vor, wo die Pflanzen an sich schon im Boden genügende Stickstoffnahrung finden.

4. Die Bakterien erzeugen wirksame, d. h. stickstoffassimilierende, mit Bakteroiden gefüllte Knöllchen (der gewöhnliche Fall in der Natur und in Versuchen mit artgleichen Bakterien).

5 und 6. Die Knöllchenbakterien entwickeln sich z u g u t in der Wirtspflanze, d. h. sie finden verhältnismäßig so reichlichen Nährboden, daß sie sich nicht in die stickstofffixierenden Bakteroiden verwandeln und den Pflanzen schaden statt nützen. Hier geht die Symbiose in schädlichen Parasitismus über. Unter natürlichen und künstlichen Bedingungen in Pflanzen, die geringe Widerstandskraft zeigen, beobachtet. Vgl. S. 177.

Nitragin. Es konnte nicht ausbleiben, daß die H e l l r i e g e l s c h e Entdeckung auch von der Landwirtschaft verwertet wurde. Das geschah zunächst in dem Sinne, daß die Gründüngung mit Leguminosen immer mehr Eingang fand. Den zweiten Schritt tat S a l f e l d²⁾, indem er die Impfung mit Boden, auf dem Leguminosen gut gewachsen waren, da — z. B. auf Moorböden — einführte, wo diese ursprünglich

1) Ob die Lupinen-, Serradellen- und Sojabohnenbakterien (s. o. *Rhizobium Beijerinckii*) artidentisch sind mit den übrigen, ist vorläufig noch zweifelhaft.

2) Deutsch. landwirtsch. Presse 1892 und 1894; Landwirtsch. Jahrb. 27, Ergänzungsband 4, 1898.

nicht gediehen. N o b b e und H i l t n e r entwickelten seit 1896 die Methode weiter, indem sie statt der Erde Knöllchenbakterien enthaltende Reinkulturen, das sogenannte Nitragin, anwandten. Das hatte, wenn es gelang, den Vorteil, daß man mit weit geringeren Mengen Impfmateriale auskam. Die Erfahrungen lauteten in der Tat mehrfach günstig, doch waren Mißerfolge an der Tagesordnung. H i l t n e r führte das darauf zurück, daß für die Virulenz der Knöllchenbakterien nicht genügend gesorgt wurde und bildete 1903 im Verein mit S t ö r m e r ein neues Impfverfahren aus, in dem auf die Herkunft und Züchtungsmethode der Reinkulturen besser geachtet wurde¹⁾. Andere Forscher hielten aber vorläufig an der Impfung mit Erde fest²⁾.

§ 202. Wurzelpilze³⁾. Auch an den Wurzeln anderer Pflanzen kommen parasitische Bildungen vor, die man mit der Stickstoffassimilation in Verbindung gebracht hat. Am meisten den Leguminosenknöllchen ähneln die der Alnusarten und Eleaagnaceen, ferner der Myrica gale, des Melampyrum pratense, Rhinanthus major und verschiedener anderer Scrophulariaceen, sowie Labiaten und Cycadeen. Bei der Erle soll es sich nach der einen Ansicht⁴⁾ um einen sporangienbildenden Pilz der Frankia subtilis handeln, nach der anderen⁵⁾ um einen strahlenpilzartigen Organismus, ebenso nach S h i b a t a⁵⁾ bei Myrica gale. In den Knöllchen der Cycadeen sind Bakterien, Pilze und sogar Algen (Nostoc oder Anabaena) gefunden worden⁶⁾. Die Fähigkeit zur Stickstoffsammlung ist nur für die Erle durch H i l t n e r sicher nachgewiesen worden, eine Bedeutung der Knöllchen für die Ernährung der Pflanzen aber auch in den übrigen Fällen wahrscheinlich. Das letztere gilt auch von den lange bekannten „Mykorrhizen“ der Koniferen, Kupuliferen, Orchideen, Ericaceen und anderer Pflanzen⁷⁾, mögen sie nun nach F r a n k s⁸⁾ Unterscheidung e k t o t r o p h sein, d. h. die Wurzeln mantelartig umgeben, oder e n d o t r o p h im Inneren derselben sitzen. Sie werden von zahlreichen Pilzarten, namentlich aus der Familie der N e c t r i a c e e n, manchmal auch von M u c o -

1) Vgl. H i l t n e r, Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstw. 1904. Bericht über die Ergebnisse usw. mit Nitragin. Stuttgart. Ulmer.

2) v. F e i l i t z e n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 374, 1909.

3) Vgl. H i l t n e r, in L a f a r s Handb. 3. 66, 1904.

4) H. M ö l l e r, Ber. bot. Ges. 1885 und 1890; B r u n c h o r s t, Tübinger Dissert. 1886.

5) H i l t n e r, Landwirtsch. Versuchsstat. 46, 1895. Forst- u. naturwiss. Zeitschr. 1898. S h i b a t a, Jahrb. wiss. Bot. 37, 1902.

6) B r u n c h o r s t a. a. O. S c h n e i d e r, Ber. bot. Gesellsch. 1894. 11.

7) S t a h l, Jahrb. wiss. Bot. 34, 1900.

8) Botan. Zeitg. 1879.

rineen gebildet. Ihre Bedeutung für die Ernährung ihrer Wirtspflanzen wird freilich verschieden aufgefaßt. Nach Stahl handelt es sich nur um eine Erleichterung der Nährsalzaufsaugung aus dem Boden; indessen ist namentlich für die endotrophen Mykorrhizen ein Zusammenhang mit der Stickstoffassimilation wahrscheinlicher¹⁾. Die Ähnlichkeit der Verhältnisse mit denen der Leguminosenknöllchen erhellt schon daraus, daß auch hier eine Auflösung der parasitischen Elemente beobachtet wird (vgl. Shibata).

§ 203. Stickstoffbindende Kleinwesen. Abgesehen von den symbiotisch lebenden Bakterien und Pilzen, die in der einen oder anderen Weise mit der Stickstoffassimilation in Verbindung gebracht werden, gibt es noch freie Organismen, die Stickstoff assimilieren können. Berthelot²⁾ hatte zuerst 1885 bemerkt, daß eine Stickstoffanreicherung auch in unbebautem Boden vor sich gehe und bewiesen, daß sie durch Mikroorganismenwirkung zustande kommen müsse, denn in sterilisiertem Boden blieb sie aus. Auf ein Kilogramm Boden betrug die Anreicherung binnen eines Sommers 20—50 mg Stickstoff. Später isolierte derselbe Forscher mit Guignard³⁾ aus Erde einige übrigens nicht näher beschriebene Bakterienarten und Pilze (*Aspergillus niger*), die auch in Reinkulturen Stickstoff assimilieren sollten. Schlösing und Laurent⁴⁾ glaubten für die Stickstofffixierung grüne Algen und Moose, B. Frank⁵⁾ diese und alle möglichen grünen Pflanzen verantwortlich machen zu können. Vor der Kritik von Hellriegel und Wilfarth⁶⁾, Kossowitsch⁷⁾, Krüger und Schneidewind⁸⁾ u. a. ließen sich diese Behauptungen aber nicht mit Sicherheit aufrecht erhalten; es schien eher wahrscheinlich, daß in den angezogenen Fällen auch wieder Bakterien an der Erhöhung der Stickstoffausbeute beteiligt gewesen und ihrerseits anderen Organismen den Boden vorbereitet hatten. Indessen sind die negativen Ergebnisse der letztgenannten Forscher auch nicht völlig beweisend, seitdem wir wissen, daß die Stickstoffbindung selbst bei den sicher dazu befähigten Formen (s. u.) eine

1) Nobbe und Hiltner, Landwirtsch. Versuchsstat. 51, 1898; Hiltner, Naturw. Zeitschr. Land- und Forstw. 1. 9, 1903; P. E. Müller, ebenda 1, 289.

2) Compt. rend. ac. sc. 101. 775, 1885.

3) Ebenda 116. 842, 1893.

4) Ebenda 111. 750 und Annal. Pasteur 1892.

5) Ber. bot. Gesellsch. 1889. 1 und 5; Landwirtsch. Jahrb. 1890.

6) Tagebl. Naturf. Vers. 1890.

7) Botan. Zeitg. 1894.

8) Landwirtsch. Jahrb. 1900. 801.

wechselnde Eigenschaft ist. So will denn auch S t o k l a s a¹⁾ später beobachtet haben, daß G r a m i n e e n im sterilisierten und steril gebliebenen Boden Stickstoff binden. Vielleicht machen auch gewisse C y a n o p h y c e e n, die B e i j e r i n c k²⁾ als „oligonitrophile“ bezeichnet, weil sie sich in Nährböden entwickeln, die nur Spuren von Stickstoff enthalten (vgl. S. 113), eine Ausnahme und bedienen sich des Stickstoffs der Atmosphäre. Soviel scheint jedenfalls sicher, daß es unter den S c h i m m e l p i l z e n solche gibt, die Stickstoff binden können. So fanden außer B e r t h e l o t auch P u r i e w i t s c h³⁾, S a i d a, T e r n e t z⁴⁾, F r ö h l i c h⁵⁾ eine Reihe von Pilzen, wie *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor*- und *Phoma*arten wirksam, während freilich G e r l a c h und V o g e l⁶⁾ im allgemeinen keine Ergebnisse hatten, und R e m y⁷⁾ höchstens für den *Aspergillus niger* geringe Stickstoffassimilation (10 mg Stickstoff im Liter) zugeben will. W i n o g r a d s k y (s. u.) und A. K o c h⁸⁾ erhielten freilich auch bei diesem Pilz keine Stickstoffausbeute. Ebensowenig übereinstimmend sind die Versuche mit den meisten Bakterienreinkulturen ausgefallen. So wird den von C a r o n aus Boden isolierten sogenannten „Alinitbakterien“, die sogar Verwendung in der praktischen Landwirtschaft gefunden haben, von J a c o b i t z⁹⁾ wieder jede Wirksamkeit abgesprochen. L ö h n i s¹⁰⁾ hat aber in mehreren Arbeiten, zum Teil mit P i l l a i und W e s t e r m a n n gemeinsam, für mehrere Bakterienarten aus der Gruppe der M i k r o k o k k e n, des *Bac. pneumoniae* (aërogenes), *radiobacter* und der S p o r e n - b i l d n e r Stickstoffassimilation nachgewiesen. Nach B r e d e m a n n¹¹⁾ ist dazu auch der im Boden weit verbreitete sporen- und gasbildende fakultativ anaërobe *Bac. asterosporus* imtsande. Allgemein günstig lauten aber die Angaben über zwei Arten oder Gruppen von Bakterien, das *Clostridium* W i n o g r a d s k y s, das streng anaërob ist, und das aërobe *Azotobakter* B e i j e r i n c k s.

1) Landwirtschaftl. Jahrb. 1895.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 561, 1901.

3) Ber. bot. Gesellsch. 1895, 342.

4) Jahrb. wiss. Bot. 44, 1907.

5) Ebenda 45, 1908.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 20/21, 1903.

7) Verh. Ges. Naturf. u. Ärzte Carlsbad 1. 221, 1903.

8) Bodenbakterien und Stickstofffrage. Verh. Gesellsch. Naturf. u. Ärzte Carlsbad 1. 182, 1903 und L a f a r s Handb. 3, 1904.

9) Zeitschr. f. Hyg. 45, 1903, Lit.

10) Zentr. Bakt. 2. Abt. 14. 582, 1905; 19, 87, 1907; 22. 234, 1908.

11) Ebenda 22. 79.

Sein *Clostridium Pasteurianum* hat Winogradsky¹⁾ regelmäßig in Petersburger Erde gefunden, wenn er 1 g davon in einer stickstofffreien Nährlösung, die im Liter 1 g sekundäres Kaliumphosphat, 0,5 g Magnesiumsulfat, je 0,01—0,02 g Chlornatrium, Eisen- und Mangansulfat sowie 20—40 g Traubenzucker enthielt, züchtete. In Erde aus Südrußland fand sich niemals derselbe Mikrobe, wohl aber ein anderes Clostridium „aus Wolhynien“, das ähnliche Eigenschaften besitzt, aber noch nicht näher studiert werden konnte, weil seine Reinkultur nicht gelang. Beide binden Stickstoff, und zwar auf je 1 g Zucker 1—3 mg²⁾. Diese Stickstoffassimilation findet nur statt, wenn die Nährlösung ganz stickstofffrei ist oder höchstens 6 mg gebundenen Stickstoff auf je 1 g Zucker enthält. Wachstum ist aber auch in den üblichen Nährböden, in Gegenwart von Ammoniaksalzen, Amiden oder Peptonen möglich. Die Clostridien rufen Buttersäuregärung hervor, die sich aber von anderen Arten (§ 113) unterscheiden soll; denn es werden — in Peptonlösungen — zwar vergoren: Dextrose, Fruktose, Galaktose, Saccharose, Dextrin und Inulin, aber nicht angegriffen: Laktose, Arabinose, Gummi, Stärke, Glyzerin, Mannit, Dulzit und Kalziumlaktat. In Kulturen, die Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak enthalten, ist das Wachstum ein kümmerliches, und es werden nur Dextrose, Saccharose und Inulin vergoren. Durch die Gärung werden entwickelt flüchtige Säuren in einer Menge von 42 bis 45 % des vergorenen Zuckers, Spuren von Milchsäure, Äthyl-, Propyl- und Butylalkohol, der Rest als Gas. Die beiden flüchtigen Säuren, Essig- und Buttersäure, und die beiden Gase Wasserstoff und Kohlensäure werden in sehr wechselndem Verhältnis erzeugt, Buttersäure herrscht vor.

Die Clostridien Winogradskys sind beide strenge Anaërobier, wachsen aber, wie viele andere Anaërobier, in Begleitung sauerstoffzehrender Bakterien der Erde auch in Kulturen gut, die vor dem Zutritt von Sauerstoff nicht geschützt sind. Da die letzteren ebenfalls Sporen bilden, z. T. fakultativ anaërob sind und in Gesellschaft der Clostridien, die ihnen offenbar die nötigen Stickstoffverbindungen liefern, auch in Nährböden wachsen, die man ursprünglich stickstofffrei hergestellt hat, sind sie schwer von den Clostridien zu trennen. Es hat den Anschein, als ob die Stickstofffixierung in solchen Mischkul-

1) Compt. rend. ac. sc. 116. 1385 und 118. 353, 1893 und 1894; Arch. biol. Petersbourg 2, 1895 und Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 43, 1902.

2) Der Stickstoff findet sich zum größten Teil in dem Bakterienniederschlag wieder, zum Teil ist er, wie auch die späteren Untersuchungen gelehrt haben, in der Flüssigkeit gelöst (Bredemann, Stoklasa s. u.).

turen etwas energischer ist, als in Reinkulturen, obwohl die Begleitbakterien selbst nicht imstande sind, den freien Stickstoff zu assimilieren¹⁾).

Das *Clostridium Pasteurianum* hat Winogradsky außer in Rußland auch in der Pariser Erde gefunden. Daß ähnliche Bakterien aber viel weiter verbreitet sind, wurde bald von anderer Seite festgestellt. So hat v. Freudenreich²⁾ in Bern ein stickstoffbildendes *Clostridium* gefunden, das aber auch den Mannit vergärt, und Pringsheim³⁾ ein *Clostridium americanum* isoliert, das außer Mannit auch Stärke und Milchzucker angreift. Nach Beijerinck und van Delden⁴⁾ wären sogar alle „Granulobakterien“ imstande, den Stickstoff zu fixieren, am vollkommensten freilich erst in der Symbiose mit *Azotobacter* (s. u.). Den vollen Beweis dafür lieferten die gründlichen Untersuchungen Bredemanns⁵⁾, die wir schon gelegentlich der Buttersäuregärung (§ 113) erwähnt haben. Die aus allen Weltgegenden stammenden, von ihm aus allen möglichen Erden selbst gezüchteten oder von anderen Forschern überlassenen „beweglichen Buttersäurebazillen“ oder, wie er sie nennt, *Bac. amylobacter*, zeigten sich imstande, auch in der Winogradsky'schen Nährlösung zu wachsen und erhebliche Stickstofferten zu liefern. Freilich war das Bindungsvermögen nicht überall von vornherein nachweisbar, sondern vielfach erst, nachdem die Kulturen durch „Bodenpassage“, d. h. Aufenthalt in sterilisiertem Erdboden, „regeneriert“ worden waren. In vielen Fällen genügte sogar schon der Zusatz großer Mengen keimfreier Erde zu der stickstofffreien Nährlösung, um den gleichen Erfolg zu erzielen (s. u. Krzemieniewski). Die Degeneration des Stickstoffbindungsvermögens, die anderen Forschern ebenfalls schon vorgekommen war, erfolgt nach Bredemann sehr ungleichmäßig. Manche Stämme neigen anscheinend gar nicht dazu, wenn man sie in Sporenform in stickstofffreier Lösung aufhebt oder in dieser Form regelmäßig in gewöhnlichen Nährböden fortpflanzt. Manche Stämme verlieren das Bindungsvermögen schon nach wenigen Genera-

1) Genauere Angaben über die Züchtung der Clostridien s. u. bei Bredemann. Auch Reinkulturen wachsen, wenn man große Kolben und starke Einsaaten benutzt, ohne besondere Vorrichtungen zur Anaërobiose. Über die Umwandlung der streng anaëroben Clostridien in sporenfreie aërobe Bakterien, die Bredemann beobachtete, siehe bei der Buttersäuregärung S. 355.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 514, 1903.

3) Ebenda 16. 300, 1906; 20. 248, 1908.

4) Ebenda 9. 3, 1902.

5) Zentr. Bakt. 23. 385, 1909, Lit.

tionen, ohne übrigens andere Zeichen der „Entartung“ zu bieten. Die Zahlen, die *Bredemann* für das Verhältnis zwischen Zuckerverbrauch und Stickstoffgewinn feststellte, sind ähnliche wie die *Winogradsky*s. Doch sind die Schwankungen erheblich, und ihre Ursachen keineswegs genügend erklärt. Zum Teil stehen sie wohl in Zusammenhang mit den aus dem Zucker bzw. anderen Kohlenhydraten gebildeten Produkten, die ihrerseits der Buttersäuregärung entsprechen. Artunterschiede zwischen den einzelnen stickstofffixierenden Clostridien bzw. Buttersäurebazillen des Typus *Amylobacter*, will *Bredemann* nicht anerkennen. Bei genügender Einsaatgröße sollen alle Kohlenhydrate und die verwandten Stoffe ausgenützt werden können.

Ganz allgemein verbreitet und daher von vielen Autoren wiedergefunden ist auch ein aërober, durch seine Größe fast an Hefe erinnernder Mikroorganismus, das zuerst von *Beijerinck*¹⁾ beschriebene *Azotobacter chroococcum*. Es ist leicht in Mischkulturen zu erhalten, wenn man Gartenerde in eine fast stickstofffreie Nährlösung bringt, die im Liter Leitungswasser 20 g Mannit oder 5 g Kalziumpropionat und 0,5 g Kaliumbiphosphat enthält und in dünner Schicht bei 23—28° kultiviert. Wenn zuviel Stickstoff geboten wird, z. B. 10 mg Salpeter im Liter, so entwickelt sich das *Azotobacter* nicht, weil er von anderen Bakterien überwuchert wird. In Reinkulturen, die man nach Anreicherung der Mischkultur durch fortgesetzte Übertragung ohne Schwierigkeit auf ähnlich zusammengesetzten festen Nährböden gewinnt, verträgt das *Azotobacter* Stickstoffverbindungen gut und läßt sich auf den üblichen stickstoffreichen Nährböden weiter züchten. Freier Stickstoff wird dabei aber nur fixiert, wenn der Gehalt an gebundenem Stickstoff ein geringer ist. Gänzliche Befreiung der Nährlösung von Stickstoff, wie man sie nur durch sorgfältige Destillation des zur Lösung verwendeten Wassers und gründlichste Reinigung der Gefäße erzielen kann, hemmt nach *Beijerinck* die Entwicklung des *Azotobacter*. So genügen denn auch die Spuren Stickstoff, die bei der gewöhnlichen Zubereitung der Nährlösungen noch in diesen vorhanden sind, um ein üppiges Wachstum zu gestatten. Als Kohlenstoffquelle sind außer dem Mannit auch viele andere kohlenstoffhaltige Körper geeignet. Diese Angaben *Beijerinck*s sind im wesentlichen von den späteren Untersuchern (*Gerlach* und *Vogel*²⁾), v. *Freu-*

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 566, 1901; *Beijerinck* und *van Delden* ebenda 9. 1, 1902.

2) Ebenda 8, 1902.

denreich¹⁾, H. Fischer²⁾, Krainski³⁾, Stoklasa⁴⁾, Heinze⁵⁾, Löhnis und Westermann⁶⁾, Krzemieniewski⁷⁾ u. a.) bestätigt und mehrfach vervollständigt worden. Auf die morphologischen und Kulturverhältnisse des Azotobacter, die zur Aufstellung neuer Arten geführt haben, gehen wir hier nicht näher ein (vgl. Fischer und namentlich Löhnis und Westermann).

Die wichtigste Frage, die nach den Bedingungen und der Ausdehnung der Stickstoffassimilation, ist nicht immer in gleichem Sinne beantwortet worden. So kam Beijerinck in seiner späteren Arbeit mit van Delden zu dem Schluß, daß Azotobacter in Reinkulturen nur wenig oder keinen Stickstoff zu binden vermöge, wohl in Symbiose mit anderen Bakterien aus der Gruppe des Coli und Aërogenes („Aërobakter“), der echten denitrifizierenden Bakterien („Radiobakter“), der Heu- und Buttersäurebakterien (Granulobacter), von denen aber nur wieder die letztgenannten (s. o. Clostridien) befähigt seien, allein für sich den Stickstoff der Luft auszunutzen. Die Verfasser stellen sich vor, daß dabei nicht das Azotobacter allein Stickstoff binde, sondern daß gerade die Begleitbakterien dies merkwürdige Vermögen bei der Symbiose erlangen und zunächst eine lösliche Stickstoffverbindung erzeugen, die dann erst das Wachstum des Azotobakter ermögliche. Ganz wenige Individuen der Buttersäurebakterien sollen schon imstande sein, eine üppige Wucherung der Azotobakterien zu bewirken. Die späteren Forscher haben diese Darstellung nicht bestätigt, sondern oft genug mit Reinkulturen des Azotobacter Stickstoffbindung erzielt. Allerdings waren die Ergebnisse recht schwankend. Teilweise mag das darin liegen, daß die benutzten Bakterienstämme ungleich wirksam waren. Die größten Schwankungen sind anscheinend hier wie bei dem Bac. amylobacter (s. o.) an der Tagesordnung. Daneben kommt aber sicher auch die Art der Züchtung in Betracht. Der offenbar günstige Einfluß des Zusatzes von steriler oder nicht steriler Erde auf den Erfolg veranlaßte die Untersuchungen Krzemieniewskis, aus denen hervorgeht, daß die Gegenwart von Humusstoffen auf eine vorläufig noch unerklärte Weise die Entwicklung und Wirksamkeit des Azotobacter, wie übrigens auch des Amylobacter (s. o.) anregt. Wahrscheinlich hat dieser Umstand die

1) Zentr. Bakt. 10.

2) Verh. naturw. Vereins Rheinl. und Westf. 1905. 135.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 20.

4) Ber. bot. Ges. 1906, 22; Zentr. Bakt. 2. Abt. 21, 1908.

5) Landwirtsch. Jahrb. 35, 1907.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 22, 1909.

7) Ebenda 23. 161, 1909.

Erfolge mancher Forscher neben anderen noch dunklen Einflüssen mitbedingt. Was die Erfolge anlangt, so wurden schon von Gerlach und Vogel, unter der Bedingung, daß man für reichlichen Luftzutritt¹⁾ und genügendes organisches Brennmaterial sorgte, sehr beträchtliche Stickstofferten erzielt. Am geeignetsten erwies sich ein Gehalt von 10—12 g Traubenzucker auf 1000 g Wasser mit je 0,5 g Kaliumbiphosphat, Chlornatrium und Kalziumkarbonat und einer Spur Ferrosulfat. Dabei ergab sich eine Zunahme von 91—128 g Stickstoff im Liter, d. h. es wurden auf je 1 g Zucker etwa 10 mg Stickstoff assimiliert. Wesentlich bessere Ernten hatte auch Krzeniowski nicht bei Zusatz von Natriumhumat zu seiner Nährlösung. Es sind das übrigens Zahlen, wie Mazé sie auch für Knöllchenbakterien (S. 620) und Krzemieniewski für den Amylobacter (s. o.) erhielt. Ternetz (s. o.) erzielte übrigens etwa doppelt so hohe Verhältniszahlen mit einigen seiner Schimmelpilze.

Der Stoffwechsel des Azotobacter wurde durch Krainski. Krzemieniewski und namentlich durch Stoklasa untersucht. Sie bestimmten in Durchlüftungsversuchen mit kohlensäure- und ammoniakfreier Luft die täglich entwickelten Kohlensäuremengen, der letztere auch die übrigen Stoffwechselprodukte, den Zuckerverbrauch sowie mittelst Eisenniederschlägen die Größe der Bakterien-ernte. Im großen und ganzen entspricht die gefundene Kohlensäure dem verschwundenen Zucker, und zwar schwankt nach Stoklasa die zur Bindung von 1 g Stickstoff oder zur Erzeugung von etwa 9—10 g Bakteriensubstanz nötige Traubenzuckermenge von 99—240 g und die in einem 18tägigen Versuch durchschnittlich von 1 g trockener Bakterienmasse²⁾ täglich entwickelte Kohlensäuremenge von 0,9 bis 2,2 g. Unter den übrigen Zersetzungsstoffen fanden sich Äthylalkohol, Ameisen-, Essig-, Butter-, Milchsäure, etwas Wasserstoff, wie Stoklasa den anders lautenden Angaben von S. und H. Krzemieniewski³⁾ gegenüber betont, ferner bei Gegenwart von Salpeter in der Nährflüssigkeit etwas Ammoniak und viel Nitrit. Auf die Analyse der Leibessubstanz, die Stoklasa beim Azotobacter vorgenommen hat, kommen wir hier nicht mehr zurück (Kap. II).

1) v. Freudenreich fand Kultur auf Gipsblöcken am günstigsten, Landwirtsch. Jahrb. 35, 1907.

2) Diese wurde nur am Schluß des Versuchs festgestellt, die Durchschnittsmenge der Bakterien ist also wohl erheblich geringer als 1 g gewesen. Die Höhe der Kohlensäureentwicklung fällt nach Stoklasa etwa auf den 4. bis 10. Tag.

3) Anzeiger der Akad. Wiss. Krakau 1906 und 1907. Auch in seinen neuesten Arbeiten (s. o.) leugnet Krzemieniewski die Entstehung von Wasserstoff sowie von Alkohol und organischen Säuren.

Das Azotobacter ist regelmäßig in allen Kulturböden aufzufinden, nicht dagegen in nachweisbarer Menge in jungfräulichen Böden, auf hohen Bergen usw. wie das von dem Amylobacter feststeht. Im Meerwasser kommt es dagegen vor¹⁾, besonders auf Meeresalgen.

§ 204. **Bedeutung der Stickstoffbindung im Boden.** Die Bedeutung der stickstoffassimilierenden Bakterien für die Anreicherung des Bodens mit Stickstoff ist ebensowenig zu leugnen wie die der Wurzelbakterien und -Pilze (§ 201 u. 202). Anders lassen sich wenigstens die Erfahrungen, die man in der Land- und Forstwirtschaft gemacht hat, kaum erklären. Der unverminderte jährliche Stickstoffertrag der Ernte²⁾ bzw. der Stickstoffzuwachs des Holzes und der Blätter im Walde³⁾ auf ungedüngtem Boden sind nämlich weder herzu- leiten aus dem durch Untergrundwässer zugeführten gebundenen, noch aus dem im Boden ursprünglich vorhandenen Stickstoffvorrat. Wenn man also den P f l a n z e n keine Assimilation freien Stickstoffs zuschreiben will, muß man M i k r o b e n dafür verantwortlich machen.

Ob es noch gelingen wird, etwa durch Impfung mit besonders kräftigen stickstoffbindenden Bakterien aus der Gruppe des Amylobacter oder Azotobacter oder anderen Formen die Anreicherung des Bodens mit Stickstoff k ü n s t l i c h zu steigern, steht dahin; die mit dem Alinit gemachten schlechten Erfahrungen (s. o. S. 627) brauchen nicht vom Versuch abzuschrecken. Die richtige Anwendung von Reinkulturen wird man allerdings hier, wie bei den Knöllchenbakterien, (s. o. S. 625) erst lernen müssen. Immerhin ist vielleicht bei der großen Verbreitung der stickstoffbindenden Arten ein anderer Weg aussichtsreicher, nämlich Anreicherung dieser Bakterien durch Zuführung reichlicher Mengen kohlenstoffhaltiger Nahrung⁴⁾.

1) B e i j e r i n c k a. a. O.; B e n e c k e und K e n t n e r, Ber. bot. Ges. 1903; B e n e c k e ebenda 1907.

2) K ü h n (Landwirtschaftl. Zeitg.). K o c h s Jahresber. 1901. 366.

3) S. bei K o c h in L a f a r s Handb. 3, 1904.

4) Vgl. K o c h und seine Mitarbeiter im Journ. f. Landwirtsch. 1907; E n g b e r d i n g, Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 614, 1909. Dort und bei H. F i s c h e r (ebenda 24. 62) wird auch eine Kritik der bakteriologischen Bodenuntersuchung nach R e m y - L ö h n i s, die es auf die Feststellung möglichst sämtlicher im Boden wirkenden mikrobiologischen Kräfte abgesehen hat, gegeben. Vgl. die Verteidigung von L ö h n i s ebenda 24, 183.

Kapitel XI.

Wandlungen des Schwefels.

§ 205. Einleitung. Abspaltung des Schwefelwasserstoffs aus organischen Verbindungen. Der Schwefel kommt mit den Mikroorganismen nicht ganz so selten in reiner Form in Berührung, häufiger in anorganischer Bindung, als Schwefelwasserstoff, Schwefelmetall, schwefelsaures und schwefligsaures Salz usw., und am häufigsten in organischer Bindung, im Eiweiß und in dessen Abkömmlingen Zystin, Taurin, Taurocholsäure u. a. Aus dem Eiweiß wird durch die Mikroorganismen Schwefelwasserstoff und Merkaptan abgespalten; durch Oxydation des Schwefelwasserstoffs, Schwefels und sauerstoffarmer Schwefelverbindungen entstehen insbesondere Schwefel und Schwefelsäure, durch Reduktion der letzteren wieder Schwefelwasserstoff. Die Synthesen der komplizierten Schwefelverbindungen sind hier wie überall dunkel. Da schwefelsaure Salze zum Aufbau des Eiweißmoleküls meist genügen, und der Schwefel im Eiweiß (Zystin) wahrscheinlich in einer Wasserstoff- bzw. Kohlenstoffbindung enthalten ist, so wird man als Vorbedingung der Synthese eine Reduktion anzunehmen haben.

Längst bekannt ist, daß bei der Fäulnis der Eiweißkörper, des Harns usw. Schwefelwasserstoff entwickelt wird. Es wurde denn auch von verschiedenen Forschern beobachtet, daß Reinkulturen von Bakterien Schwefelwasserstoff bilden könnten, so besonders die anaëroben Bazillen des malignen Ödems, Rauschbrands usw. (Nencki S. 504), aber auch die Proteusarten (Holschewnikoff¹), die Choleraspirillen (Buchner²) u. a. m. Umfangreiche Feststellungen über die Schwefelwasserstoffbildung verdanken wir dann Petri und Maassen³), sowie Rubner⁴) und seinen Schülern Stagnitta-

1) Fortschritte der Medizin 1889. 201.

2) Ebenda angeführt.

3) Arbeit. Gesundheitsamts 8. 338 und 490, 1893.

4) Arch. f. Hyg. 16. 53 und 78, 1893.

Balistieri¹⁾, Niemann und Morris²⁾. Darin stimmen diese Forscher überein, daß sehr viele Mikroorganismen die Fähigkeit besitzen, Schwefelwasserstoff zu entwickeln, und zwar in besonders hohem Grade die *Bac. typhi*, *coli*, *enteritidis*, *proteus*, *mallei*, *murisepticus* und *rhusiopathiae suis*, sämtliche Vibrionen, der *Staphyloc. pyog. aureus*, wozu dann noch die strengen Anaërobier kommen. Doch fanden Petri und Maassen, daß auch alle übrigen von ihnen untersuchten Organismen unter günstigen Umständen imstande seien, mehr oder weniger Schwefelwasserstoff zu bilden, während nach Morris unter denselben Versuchsbedingungen die *Bac. anthracis*, *diphtheriae*, *subtilis*, *mycoides*, ferner Hefe und Schimmelpilze versagten. Unleugbar bleibt die Tatsache, daß große Unterschiede in der Quantität des produzierten Schwefelwasserstoffs bestehen. Wahrscheinlich erklären sich die Widersprüche zum Teil daraus, daß das Vermögen der einzelnen Spezies, H_2S aus Eiweiß abzuspalten, ein ebenso veränderliches ist, wie etwa ihre Fähigkeit, es zu peptonisieren.

Sicher fällt das Ergebnis sehr verschieden aus, je nach den Nährlösungen, die man den Mikroorganismen zur Verfügung stellt, und nach dem Maße, in dem man dem Sauerstoff zu den Kulturen zuzutreten gestattet.

Wenig geeignet ist die peptonfreie gewöhnliche Fleischbouillon; auf ihr bilden auch nach Petri und Maassen nicht alle Bakterien Schwefelwasserstoff. Noch weniger günstig wirken aber reine Eiweißlösungen, vor allem flüssige Blutseren. Eier³⁾ verhalten sich recht ungleich. Der günstigste Nährboden ist 5—10prozentige Peptonbouillon. Sowohl reduzierende Körper wie Zucker, als oxydierende Stoffe wie Salpeter, indigoschwefelsaures Natron hemmen nach Petri und Maassen die Schwefelwasserstoffbildung, ebenso reichliche Durchleitung der Luft. So bildete der *Bac. proteus vulgaris* nach Rubner aus einem Liter Bouillon (ohne Pepton) bei gleich gutem Wachstum ohne Lüftung 33 mg H_2S , mit Lüftung nur 4—5 mg.

In vielen Fällen bildet sich Schwefelwasserstoff schon sehr früh, z. B. am ersten Tage und selbst in den ersten Stunden der Entwicklung,

1) Arch. f. Hyg.

2) Ebenda 30, 1897.

3) Die Schwefelwasserstoffbildung der Choleravibrionen in Eiern ist von Scholl und Hüppe behauptet, von Zenthöfer (Zeitschr. f. Hyg. 16), Dönitz (ebenda 18), Abel und Dräer (ebenda 20) aber im wesentlichen auf Verunreinigungen mit fäulniserregenden Anaëroben zurückgeführt worden.

in anderen erst spät. Manchmal, z. B. beim Bazillus der blauen Milch, verhindert das nebenher reichlich erzeugte Ammoniak die freiwillige Entbindung des H_2S , man kann sie dann durch Säurezusatz hervorrufen.

In manchen Fällen entscheidet schon der bekannte Geruch über die Anwesenheit von H_2S . Genauer und sehr einfach prüft man auf Schwefelwasserstoff, indem man in das Kulturröhrchen einen Streifen von Bleizuckerpapier einhängt. Tritt eine hellgelbe Färbung und später eine Bräunung ein, so muß man allerdings auch an Merkaptan denken (s. u.). In Stichkulturen auf Agar hat sich auch ein Zusatz von Eisentartrat oder Eisensaccharat (3%), noch besser nach Morris ein solcher von Bleizucker (1‰) bewährt. Quantitativ kann der freigewordene Schwefelwasserstoff dadurch bestimmt werden, daß man den Schwefelgehalt des Nährbodens vor und nach der Züchtung vergleicht. Man kann auch die Gase, die sich aus der Kultur entwickeln, in Jodlösung auffangen und durch Titrierung bestimmen, oder sie durch eine Lösung von Quecksilberzyanid streichen lassen, die dabei entstehende Fällung (Quecksilbermerkaptid und Schwefelquecksilber) zuerst durch verdünnte (3%) Salzsäure und dann durch stärkere Säure zerlegen, und die Gase in Bleilösung auffangen. Dadurch gewinnt man zunächst das Bleimerkaptid als gelben, dann das Bleisulfid als schwarzen Niederschlag (R u b n e r).

Die gewöhnliche Fleischbouillon enthält im Liter etwa 30—70 mg Gesamtschwefel, darunter nur 2—12 mg in Sulfaten, den Rest in organischer Bindung. Echte Eiweißsubstanzen, durch essigsaures Eisen fällbar, befinden sich darunter nur in geringer Menge; wieviel aber auf Pepton, wieviel auf die übrigen einfachen Stoffe kommt, ist unbekannt. In 1 prozentiger Peptonbouillon sind enthalten 213 mg, in 1 prozentigem Peptonbouillonagar 304, in Peptonbouillongelatine 705 mg Schwefel, davon entfallen auf den Fleischextrakt 70, auf das Pepton 143, auf den Agar 90 und auf die Gelatine 492 mg. Im Blutserum ist der Schwefelgehalt ebenfalls sehr hoch (512 mg); natürlich beruht er hier und im Pepton im wesentlichen auf dem Eiweißschwefel (1—2%), während Agar und Gelatine wohl den größten Teil des Schwefels in mineralischer Form enthalten. Genauere Untersuchungen fehlen.

Bevor wir die Frage behandeln, wie man sich die Bildung des Schwefelwasserstoffs zu denken hat, ist die Vorfrage zu entscheiden, auf Kosten welcher Stoffe er entsteht. Schon aus der Tatsache, daß die Bouillonkulturen um so mehr Schwefelwasserstoff entwickeln, je größer ihr Gehalt an Peptonen (Albumosen) war, ist auf die vorwiegende Beteiligung der eiweißartigen Stoffe zu schließen. Doch wäre damit noch nicht gesagt, daß nicht auch die anorganischen Verbindungen, also in erster Linie die schwefelsauren Salze, angegriffen würden. Nur in wenigen Fällen hat man bisher durch unmittelbare Untersuchung der schwefelwasserstoffliefernden Kulturen sichere Unterlagen zu gewinnen gesucht. R u b n e r hat dabei folgendes festgestellt: die Sulfate können aus der (peptonfreien) Bouillon ausgefällt werden, ohne daß die Schwefelwasserstoffherzeugung z. B. durch den Bac. proteus, typhi usw. dadurch beeinträchtigt wird. Bleiben die Sulfate aber

in der Kulturflüssigkeit, so zeigte sich in einigen länger dauernden Versuchen eine starke Abnahme der Sulfate, allerdings trat dieselbe auch ein bei dem Wurzelbazillus, der überhaupt keinen H_2S bildete. Andererseits erschien der Schwefelsäuregehalt unverändert in jungen Kulturen. Ja, er stieg sogar in Kulturen, die Schwefelwasserstoff bildeten, besonders wenn sie stark gelüftet wurden. Man muß einerseits daraus schließen, daß auch die Sulfate selbst bei Gegenwart organischer Substanzen angegriffen werden. Vielleicht dienen sie auch hier zum Aufbau von Bakterieneiweiß, wie sie ja nachweislich von vielen Mikroorganismen in einfachen Nährsalzlösungen assimiliert werden (§ 30). Diese Assimilation der Sulfate ist, wie schon oben bemerkt, kaum anders zu deuten, denn als Reduktion; ob dabei Schwefelwasserstoff als Zwischenprodukt erscheint, ist unbekannt, aber unwahrscheinlich ist es nicht. Jedenfalls wird er dann nur in kleinen Mengen erzeugt und sofort gebunden, so daß er nicht als freies Gas austritt (Wurzelbazillus). Ebenso sicher ist andererseits die Tatsache, daß der organisch gebundene Schwefel unter dem Einfluß der Luft durch die Bakterien zu Schwefelsäure oxydiert werden kann¹⁾. Wahrscheinlich stellt auch hier der Schwefelwasserstoff das Zwischenstadium dar, das um so weniger deutlich in die Erscheinung tritt, je reichlicher freier Sauerstoff auf ihn einwirken kann. Auf die Oxydation des Schwefels kommen wir später zurück (§ 201 ff.).

Im ganzen hat sich bei den Versuchen Rubners aber gezeigt, daß die Veränderungen, die der Schwefelsäuregehalt der Bouillon durch das Wachstum der Bakterien erfährt, ihrem Umfange nach nicht in Betracht kommen gegenüber den Wandlungen der organischen Schwefelverbindungen. Diese sind es in erster Linie, die den Schwefelwasserstoff und gleichzeitig den Schwefel zum Aufbau des Protoplasmas liefern. So enthielt z. B. in einem Versuch mit Proteusbazillen 1 Liter Bouillon

	vor dem Versuch	nach dem Versuch	Unterschied
Sulfatschwefel	6,1 mg	1,5 mg	— 4,6 mg
Organischen Schwefel	52,8 „	28,1 „	— 24,7 „
S durch Eisen fällbar ²⁾	1,2 „	25,3 „	+ 24,1 „
Im ganzen:	60,1 mg	54,9 mg	— 6,2 mg

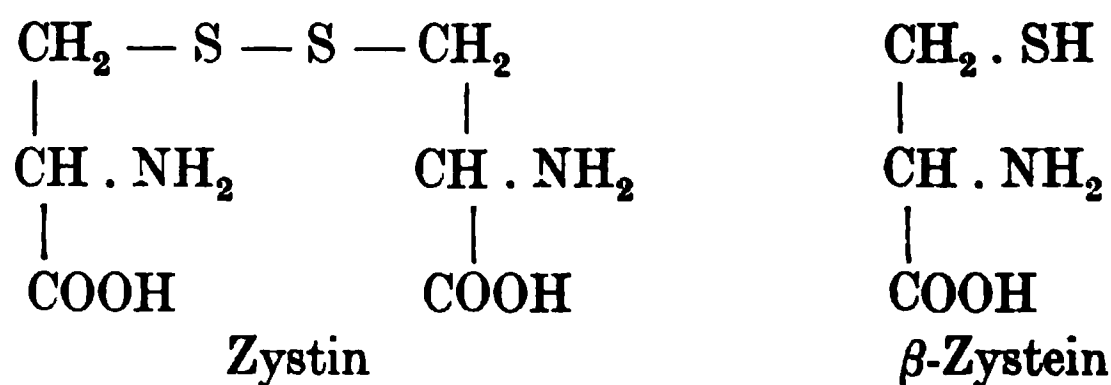
1) Vgl. Verwesung § 176 u. 183.

2) Durch essigsaures Eisen werden neben Spuren von gelöstem Eiweiß alle Bakterien leicht gefällt.

Der Verlust von 6,2 mg ist hier durch das Entweichen von Schwefelwasserstoff bedingt, ihm steht die Zunahme von 24,1 mg in dem assimilierten Schwefel gegenüber. Die Kosten tragen wesentlich die organischen Schwefelverbindungen. Über deren Natur ist leider sehr wenig bekannt, es könnten Peptone und Spuren von freiem Zystin und Taurin sein.

Entsprechende Schwefelbilanzen für stärker eiweißhaltige Kulturen liegen nicht vor, wohl aber für Harn. Nicht selten verfällt dieser bald nach seiner Entleerung aus dem Körper einer Zersetzung, bei der ein starker Geruch nach Schwefelwasserstoff und Merkaptan auftritt. F. Müller, Rosenstein und Gutzmann, Salkowski und zuletzt Karplus¹⁾ haben diese Veränderung auf bestimmte Bakterien zurückgeführt und näher studiert. Der Mikroorganismus von Karplus, eine Art von *Bac. coli*, bildete sehr wenig H_2S in Bouillon, anderen Fleischnährböden und Eiern, sehr viel in eiweißfreiem Harn. Die Analyse ergab, daß die vorgebildete und die Äther-Schwefelsäure nicht angegriffen, der übrige organisch gebundene Schwefel aber stark vermindert war. Leider ist man über die Zusammensetzung dieses „Neutralschwefels“ des Harns sehr wenig unterrichtet. Man wird wohl in erster Linie an Zystin, bzw. Taurin zu denken haben.

Haben wir sonach ein Recht, anzunehmen, daß es die organischen Schwefelverbindungen sind, die unter dem Einflusse der Kleinwesen den Schwefelwasserstoff liefern, so müssen wir jetzt der Frage näher treten, wie dieser Stoff aus ihnen frei werden kann. Es ist bekannt, daß schon anscheinend leichte Eingriffe, z. B. die Koagulation durch Hitze beim Eiereiweiß, die Entwicklung des Gases veranlassen. Bei Schmelzen oder Kochen mit Alkali geschieht das in höherem Maße. Nach den neueren Anschauungen über den Bau der Eiweißstoffe²⁾ scheint der Schwefel vor allem in dem Zystin- bzw. Zysteinkern enthalten zu sein. Diese Körper verhalten sich gegenüber den Alkalien ähnlich wie das Eiweiß. Aus ihren Strukturformeln:



ersieht man, daß der Schwefel in ihnen nicht in der Sulfo-, sondern in der Thiogruppe enthalten ist. Die leichte Abspaltbarkeit von H_2S

1) Virchows Arch. 131 (mit Literatur).

2) Vgl. Lit. S. 483, ferner E. Friedmann, Kreislauf des Schwefels in den Ergebnissen der Physiologie von Asher und Spiro, 1. 15, 1902.

wird dadurch etwas verständlicher. Wie sie erfolgt, ist freilich damit noch nicht entschieden. Man hat zunächst hier, wie sonst, versucht, die bakteriellen Umsetzungen durch einfache chemische Prozesse zu erklären. In diesem Falle sollte es wieder Wasserstoff in statu nascenti sein, der den Schwefelwasserstoff frei machte (P e t r i und M a a ß e n). Zunächst würde man dadurch offenbar nur an Stelle einer Unbekannten eine zweite setzen, denn wodurch wird das Auftreten des Wasserstoffs bedingt? B e i j e r i n c k ¹⁾ hat ferner mit Recht dagegen eingewandt, daß man weder den freien Wasserstoff nachgewiesen habe, noch mit solchem auf experimentellem Wege aus Eiweißkörpern Schwefelwasserstoff entbinden könne. Diejenigen Bakterien, die besonders leicht eine Wasserstoffgärung erzeugen, wie z. B. der Bac. coli, sind auch durchaus nicht stärkere Sulfidbildner, als die übrigen (Bac. typhi), oft kann man sogar das Gegenteil beobachten. Wenn man weiterhin versucht hat, die Schwefelwasserstoffbildung mit anderen Reduktionswirkungen, mit der Bildung von Nitrit aus Nitrat, der Verwandlung des Schwefels in Schwefelwasserstoff (§ 211) zu vergleichen, so ist dabei zu beachten, daß diese Vorgänge durchaus nicht einander parallel gehen, also nicht gleich erklärt werden können.

Es bleibt wohl nichts übrig, als die Erzeugung von Schwefelwasserstoff aus Eiweißkörpern und ihren Abkömmlingen als eine spezifische Wirkung der Mikroorganismen aufzufassen, die sich vergleichen läßt der Bildung von Ammoniak und anderen Reduktionsprodukten (§ 167 ff.) aus Eiweiß. Alles sind Prozesse, die das Eiweißmolekül angreifen, indem sie Umsetzungen der Atome gegeneinander und Spaltungen bewirken. Die Beteiligung von Wasser ist dabei nicht ausgeschlossen, im Gegenteil läßt sich die Entstehung des H_2S aus dem Zystein am einfachsten auf eine solche hydrolytische Spaltung zurückführen. So wurden denn auch, wie bei allen fermentativen Prozessen, eigentümliche Unterschiede zwischen den einzelnen Mikroorganismen beobachtet. Die einen sind nur imstande, Peptone oder die einfachsten schwefelhaltigen Verbindungen zu zersetzen, andere feste und flüssige Eiweißkörper. Merkwürdig ist z. B. das Verhalten des Wurzelbazillus: nach P e t r i und M a a ß e n ist er fast der einzige Mikroorganismus, der auf flüssigem Blutserum Schwefelwasserstoff bildet, auf geronnenem Blutserum teilt er diese Eigenschaft mit vielen verflüssigenden Bakterien, in den Peptonnährböden steht er dagegen hinter den meisten anderen Mikroorganismen zurück. Wahrscheinlich werden sich noch manche andere bemerkenswerte Verschiedenheiten ergeben, wenn man die einzelnen Eiweißkörper und ihre schwefelhaltigen Abkömmlinge

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 7, 1895.

gegenüber den Mikroben prüfen wird. Diese Probe fehlt sogar noch bei den wichtigsten dieser Körper, dem Zystein und Zystin. Man darf sich außerdem nicht verhehlen, daß Klarheit in diesen Verhältnissen überhaupt nicht erreicht werden wird, ehe die Art und Weise, wie der Schwefel im Eiweiß gebunden ist, vollständig sichergestellt worden ist. Daß viel daran noch fehlt, werden wir bei der Besprechung der Merkaptanbildung sehen. Unter den Abbaustoffen wird sich das Taurin vermutlich anders verhalten als das Zystin, da es eine Sulfoverbindung (Aminoäthansulfosäure) ist (vgl. S. 589).

Ein wichtiger Fortschritt wurde bedingt durch M a a ß e n¹⁾ selbst, der sich dadurch zu einer Änderung seines früheren Standpunktes veranlaßt sah. Er fand nämlich, daß zwar nicht der Preßsaft des Petrischen Butterbazillus, aber mit Sand zerriebene Azetondauerpräparate von *Proteus mirabilis* und *Vibriophosphorescens* aus Pepton innerhalb von 1—2 Stunden bei 45° Schwefelwasserstoff in deutlich nachweisbaren Spuren entwickeln. Bei Pilzen, namentlich bei der Hefe, erwies sich auch der Preßsaft wirksam. Weit kräftiger und daneben widerstandsfähiger waren ähnliche Präparate aus Pflanzen- und Tierzellen (Leber). Durch Chloroform, Toluol und Benzol wurden sie ebensowenig geschädigt, wie durch Blausäure, was nebenbei bemerkt für eine Verschiedenheit der nitratreduzierenden Stoffe (S. 612) spricht. Merkwürdigerweise wurden sie auch durch die Siedehitze erst zerstört, wenn sie länger als 10 Minuten einwirkte. Sie ähneln dadurch gewissen Oxydationsfermenten (S. 468). Ob sie aber selbst Fermente sind und inwieweit sie mit anderen reduzierenden Stoffen übereinstimmen, muß vorläufig unentschieden bleiben (vgl. § 211).

Die Beeinflussung der Schwefelwasserstoffbildung durch die Gegenwart von Zucker im Nährboden erklärt sich wohl in ähnlicher Weise wie die der Indolbildung (§ 174) und der Eiweißzersetzung (§ 186) überhaupt: nicht nur wirkt die Säure, die bei der Zuckerspaltung entsteht, der tryptischen Verdauung entgegen, sondern die Anwesenheit eines guten Nährstoffes, wie der Zucker einer ist, schützt das Eiweiß vor der Zersetzung.

Einen unmittelbar hemmenden Einfluß auf den Prozeß der Schwefelwasserstoffbildung werden Oxydationsmittel wie salpetersaure Salze haben müssen, sie werden sich aber auch wie der freie Sauerstoff selbst nicht gleichgültig verhalten gegenüber dem fertig gebildeten Schwefelwasserstoff. Daneben darf man auch hier biologische Wir-

1) Arbeit. Gesundheitsamts 21. 3, 1904.

kungen, d. h. in diesem Falle oxydierende Kräfte der Zellen, nicht ausschließen. Nachgewiesen sind solche, wie wir gleich sehen werden, z. B. im Preßsaft der Hefe (§ 207).

§ 206. **Merkaptanbildung.** Neben dem Schwefelwasserstoff entsteht bei der Fäulnis¹⁾ der Eiweißstoffe nicht selten Merkaptan, und zwar gewöhnlich Methylmerkaptan $\text{CH}_3 \cdot \text{HS}$. In Reinkulturen von Anaërobiern fanden es N e n c k i und seine Mitarbeiter (S. 504), beim Bac. proteus und tetani R u b n e r²⁾, beim Bac. proteus, mycoides, praepollens und esterificans P e t r i und M a a ß e n³⁾, bei Heubazillen K ö n i g und S p i e c k e r m a n n⁴⁾. Aus Eiweißkörpern erhält man es wie das Äthylmerkaptan und den Schwefelwasserstoff durch Schmelzen mit Alkalien und bei der Trockendestillation (R u b n e r). Unbekannt ist, in welcher Form es im Eiweißmolekül vorgebildet ist. Auch bei der bakteriellen Zersetzung von schwefelhaltigen Abbauprodukten des Eiweißes (z. B. dem „Neutralschwefel“ des Harns) kommt aber der Körper vor (vgl. K a r p l u s S. 638). Für die Möglichkeit einer synthetischen Entstehung spricht die Tatsache, daß durch die alkoholische Vergärung des Zuckers mit Hefe bei Gegenwart von elementarem Schwefel neben viel Schwefelwasserstoff (§ 211) auch kleine Mengen Äthylmerkaptan gebildet werden (R u b n e r). P e t r i und M a a ß e n möchten die Merkaptanbildung beim Bac. esterificans ebenfalls durch eine Synthese aus H_2S und Alkohol erklären.

Gewöhnlich wird so wenig Merkaptan von den Mikroorganismen erzeugt, daß seine quantitative Bestimmung nicht möglich ist. Für seine Erkennung genügt meistens der widrige knoblauchartige Geruch. Charakteristisch ist ferner die D e n i g è s s c h e Reaktion: die aus der Kultur sich entwickelnden Gase werden in einem Kugelapparat aufgefangen, der eine 0,5prozentige Lösung von Isatin in konzentrierter Schwefelsäure enthält. Die rötlichgelbe Farbe verwandelt sich durch Merkaptan in eine grüne. Aus 100—1000 ccm Bouillonkultur vermochte freilich M o r r i s (Arch. f. Hyg. 30) auf diese Weise nur beim Proteus vulgaris Merkaptan nachzuweisen. Über die Trennung des Merkaptans vom Schwefelwasserstoff s. o. S. 636. Die Bleiprobe ist nur mit Vorsicht zu benutzen. Eisensalznährböden reagieren nicht auf Merkaptan.

§ 207. **Oxydation des Schwefels und seiner Verbindungen.** Während das schwefelhaltige Endprodukt der anaëroben Eiweißzersetzung, der sogenannten Fäulnis, der Schwefelwasserstoff ist, tritt

1) E. und H. S a l k o w s k i, Ber. chem. Gesellsch. 1879, 648.

2) Arch. f. Hyg. 19. 184, 1893.

3) Arbeit. Gesundheitsamt. 8. 498, 1893, vgl. M a a ß e n, eb. 15. 500, 1901.

4) Zentr. Bakt. 2. Abt. 10. 535, 1903.

dieser Körper bei der Verwesung, die unter kräftiger Mitwirkung des Luftsauerstoffs verläuft, nicht in größeren Mengen auf, sondern statt dessen Schwefelsäure (§ 176). Zum Beispiel verläuft die Verwesung im Boden mit einer starken Zunahme des Schwefelsäuregehalts, wie zahlreiche Untersuchungen des Grundwassers in stark mit „Stadtjauche“ verunreinigtem oder Leichen enthaltendem Boden und des Ablaufes von biologischen Filtern (§ 183) ergeben haben. Welche Mikroorganismen dabei vorwiegend ins Spiel treten, ist noch nicht genügend studiert worden. Immerhin wissen wir, daß zur Oxydation der Schwefelverbindungen sicher viele Mikroben imstande sind. In bescheidenem Maße haben wir diese Eigenschaft bei Bakterien entwickelt gefunden, die aus Eiweiß Schwefelwasserstoff abspalten (S. 637). Marchal (S. 527) gibt ferner an, daß der *Bac. mycoides* nicht nur den Kohlenstoff des Eiweißes zu Kohlensäure, seinen Wasserstoff zu Wasser, sondern ebenso seinen Schwefel zu Schwefelsäure oxydiert. Analytische Belege fehlen freilich. Andere aërobe Mikroorganismen, die unter kräftiger Oxydation Eiweiß zersetzen, vor allem die Schimmelpilze (S. 531), werden voraussichtlich auch zur Oxydation des Eiweißschwefels imstande sein. Unmittelbare Beweise dafür sind aber noch zu liefern. Ob dabei Schwefelwasserstoff als Zwischenstufe auftritt, ist ebenfalls unbekannt. Jedenfalls tritt er bei den Schimmelpilzen niemals in größeren Mengen in Freiheit.

Daß auch Lebewesen, in deren Ernährung die Schwefelverbindungen eine so bescheidene Rolle spielen, wie die Hefepilze¹⁾, besondere Einrichtungen haben, um diese in ihrem Stoffwechsel zu verwerten, und zwar zu oxydieren, haben Hahn und Gerret²⁾ in ihren Versuchen mit dem zellfreien Hefepreßsaft wahrscheinlich gemacht. Sie fanden während der Selbstverdauung dieses Saftes eine Vermehrung des Schwefelsäuregehalts von 0,033 % auf 0,060 %. Mit der Zymase scheint also, da man vorläufig eine Abspaltung von Schwefelsäure etwa aus Sulfo-säuren nicht anzunehmen berechtigt ist, eine Art von Schwefel-oxydase vergesellschaftet zu sein. Das schließt, wie wir später sehen werden, die Gegenwart eines Schwefelsäure reduzierenden Ferments (Philothion) in dem Hefepreßsaft nicht aus (§ 211). Ähnliche Untersuchungen bei anderen Mikroorganismen liegen noch nicht vor.

Auf der anderen Seite wissen wir, daß der durch die Fäulnis oder auf andere Weise (§ 205, 211, 212) gebildete Schwefelwasserstoff durch eine Reihe merkwürdiger, namentlich im Wasser lebender Kleinwesen, die geradezu auf diesen Stoff angewiesen sind,

1) Ad. Mayer, Gärungschemie 5. Aufl. 1902. 149.

2) Vgl. Zymasegärung (Buchner und Hahn 1903) S. 307.

zu Schwefel und Schwefelsäure oxydiert werden kann. Es sind das die farblosen Schwefelbakterien, die ihren Namen davon haben, daß sie Schwefelkörner in ihrem Leibe aufspeichern, ferner ein Teil der Purpurbakterien, deren Körper außer Schwefel noch roten Farbstoff enthält, schließlich farblose Bakterien, die zwar nicht in ihren Leibern Schwefel aufspeichern, aber in ihrer Umgebung solchen ausscheiden und daneben die vorgenannte Schwefelsäure oder andere Oxydationsprodukte des Schwefels erzeugen. Man hat ein Recht, alle diese Mikroorganismen als Erreger der Schwefelsäuregärung zusammenzufassen (§ 208—210).

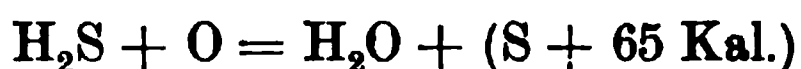
§ 208. **Farblose Schwefelbakterien.** Diese Sumpfwasser bewohnenden stättlichen Mikroorganismen sind schon lange unter dem Namen der *Beggiatoafäden* bekannt. Daß die sie auszeichnenden, stark lichtbrechenden Inthaltkörner aus Schwefel bestehen, zeigte zuerst *Cramer*¹⁾. *F. Cohn*²⁾ stellte dann die Theorie auf, daß die *Beggiatoen* und die Purpurbakterien, von denen wir später sprechen werden (§ 209), den Schwefelwasserstoff durch Reduktion aus schwefelsauren Salzen erzeugten. Nach *Winogradsky*³⁾ Arbeiten verhält sich die Sache umgekehrt so, daß der Schwefelwasserstoff durch andere sulfatreduzierende Mikroorganismen u. dgl. geliefert und von den *Beggiatoen* zu Schwefel und Schwefelsäure oxydiert wird. Dieser Prozeß ist ihnen zu ihrem Leben so nötig, daß sie in einem Wasser, das frei ist von Schwefelwasserstoff, nicht zu existieren vermögen. Wird ihnen das Gas entzogen, so zehren sie eine Zeitlang noch von dem Schwefel, den sie in in ihrem Körper aufgespeichert haben; wenn er verbraucht ist, sterben sie ab. Allzu hoch darf der Schwefelwasserstoffgehalt freilich nicht steigen; ist das Wasser damit gesättigt, so gehen sie ebenfalls zugrunde. Die Menge des Gases, das die *Beggiatoen* verbrauchen, ist recht erheblich, sie beträgt täglich etwa das Doppelte bis Vierfache ihres eigenen Gewichtes. Andere Nährstoffe werden dafür um so weniger gebraucht; es sollen wohl solche einfachster Form, wie z. B. ameisensaure und propionsaure, genügen, doch wären genauere Untersuchungen darüber nötig, die freilich die Herstellung von Reinkulturen zur Voraussetzung hätten. Jedenfalls ist sicher, daß, wenn das Wasser nur Spuren von organischer Substanz und Salpetersäure neben genügendem Schwefelwasserstoff

1) Bei Chr. Müller, Chem.-phys. Beschreibung der Thermen von Baden in der Schweiz, 1870.

2) Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 1. 3, 1875.

3) Botan. Zeitg. 1887. 31—37 und Beitr. z. Morphol. u. Physiol. d. Bakterien, Leipzig 1888.

enthält, wie es bei vielen Schwefelwässern der Fall ist, diese merkwürdigen Organismen darin fortkommen können, während die Gegenwart reichlicher und besserer Nährstoffe, wie Zucker, Pepton und dergleichen, nur das Aufkommen anderer Mikroben begünstigt und schon dadurch die Schwefelbakterien schädigt. Sie verhalten sich also ähnlich den Nitrifikationsbakterien (§ 196), nur scheinen sie mit Kohlensäure als einziger C-Quelle doch nicht auskommen zu können. Wie dort die Oxydation des Ammoniaks und der salpetrigen Säure, so liefert hier die Verbrennung des Schwefelwasserstoffs und Schwefels die zum Leben nötige Energie. In beiden Fällen scheint die Natur übrigens nicht sehr sparsam zu wirtschaften. So werden, wie wir sahen (S. 603), verhältnismäßig große Energiemengen für den Aufbau der organischen Substanz durch die Nitrobakterien verbraucht. Genaue Bestimmungen des Schwefelbedarfs und des ganzen Stoffwechsels fehlen allerdings, man hat aber einige Anhaltspunkte in gewissen Beobachtungen Winogradsky's. Verschwinden doch, wenn man den Zutritt von Schwefelwasserstoff von einer Beggiatoenkultur absperrt, binnen 24 Stunden die den Körper prall erfüllenden Schwefeltröpfchen vollständig durch Oxydation zu Schwefelsäure, während in der gleichen Zeit die Masse des Spaltpilzes höchstens um das Doppelte zunimmt. Man darf daher wohl annehmen, daß zur Assimilation von je 1 g Kohlenstoff etwa 8—19 g Schwefel verbraucht werden. Lassen wir auch die stark endotherme Reaktion



beiseite und stellen bloß die Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure in Rechnung:



so kann man nach anderwärts ausgeführten Berechnungen (S. 611) leicht überschlagen, daß schon die Verbrennung eines Atoms Schwefels mehr als hinreichende Energie liefern könnte, um den Aufbau von 3 Atomen, d. h. etwa des gleichen Gewichts der Propionsäure und einem Atom Stickstoff (der Salpetersäure) zu Aminopropionsäure zu bewerkstelligen. Der Aufbau anderer Aminosäuren und damit auch des Eiweißes erfordert noch weniger Energie (§ 231). Die tatsächlich entwickelte Wärmemenge ist also ein Vielfaches der theoretisch erforderlichen. Die bei der Verbrennung des Schwefels nachweislich gebildete Schwefelsäure soll nach Winogradsky durch den gleichzeitig im Wasser vorkommenden kohlen sauren Kalk abgesättigt werden. Eine saure Reaktion entsteht jedenfalls nicht in den Wasserkulturen der Schwefelbakterien.

Zu den reichlichen Verbrennungen, die sie verursachen, brauchen die Mikroorganismen natürlich viel Sauerstoff, den sie gewöhnlich der Atmosphäre entnehmen. Sie siedeln sich deshalb niemals auf dem Boden tieferer Gewässer an, sondern finden sich gewöhnlich in Tiefen bis zu 1 m. Nur in Gegenwart grüner Gewächse, die selbst Sauerstoff ausatmen, können die Schwefelbakterien auch in größeren Tiefen fortkommen. Da sie andererseits auf den Schwefelwasserstoff angewiesen sind, und dieser an der Oberfläche der Gewässer schon durch den atmosphärischen Sauerstoff schnell oxydiert wird, bilden sie auf ihnen keine Decken (Kahmhäute), sondern halten sich immer in einiger Entfernung davon an den Wänden des Gefäßes. Dieselbe Erscheinung zeigt sich auch bei der Untersuchung in hängenden Tropfen: der äußerste Rand wird freigelassen, dann kommt eine Zone, in der sich die Beggiatoen anhäufen (vgl. S. 100). Bei anderen farblosen, aber lebhafter beweglichen Schwefelbakterien, die Jegunow¹⁾ beschrieben hat, kann man in größeren Gefäßen freischwebende eigentümliche Ansammlungen beobachten, die sich in ähnlicher Weise aus dem Widerstreit des Sauerstoff- und Schwefelwasserstoffbedürfnisses erklären: es erscheinen in einiger Entfernung unter der Wasseroberfläche Schwärme von Mikroorganismen, teils in Form dünner Platten, teils in größerer Vielgestaltigkeit. Die nähere Untersuchung lehrt, daß ein mit Eisenoxydhydrat getränkter „Reaktions“-Faden in die Flüssigkeit eingesenkt sich nur unterhalb dieser „Bakterienplatten“ durch Sulfidbildung schwärzt. Die Bakteriengesellschaften fangen offenbar den aus der Tiefe aufsteigenden Schwefelwasserstoff und den von der Oberfläche her eindringenden Sauerstoff an der passendsten Stelle ab (vgl. auch S. 185 u. 186).

Die Reinkultur der farblosen Schwefelbakterien ist bisher nicht geglückt. Man muß sich damit begnügen, sie mit Winogradsky entweder im kleinen — am besten einfach auf dem Objektträger unter dem Deckglas, nicht in hängenden Tropfen — oder im großen in Gefäßen mit fließendem Wasser zu züchten. Als Kulturmittel eignet sich besonders das Wasser von Schwefelquellen, in denen die Beggiatoen ja auch unter natürlichen Bedingungen vortrefflich fortkommen, aber auch jedes andere Wasser, wenn man ihm etwas Schwefelwasserstoff zusetzt. Hat man keine natürlichen Pilzrasen zur Verfügung, so kann man als Ausgangsmaterial frische Wurzelstücke einer Sumpfpflanze, z. B. der Wasserviole (Butomus), benutzen. Man legt sie in ein tiefes Gefäß mit Brunnenwasser, dem man etwas Gips beimischt, und läßt es einige Wochen im Dunkeln stehen, bis sich Schwefelwasserstoff und damit allmählich auch eine Wucherung der Beggiatoen in weißen Rasen entwickelt.

Der Schwefel ist in Tropfenform in den Zellen enthalten und löst sich zum größten Teil in Schwefelkohlenstoff auf, wenn man den

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 2, 1896.

getrockneten Rasen damit auszieht. Erwärmt man schwefelreiche Fäden in einem Tropfen Wasser vorsichtig auf 70°, so fließen die kleinen Tropfen zu großen zusammen. Aus abgetöteten Fäden kristallisiert der Schwefel in langen durchsichtigen, monoklinen Prismen oder in kurzen schwarzen rhombischen Oktaedern aus. Erwähnt sei noch die diesen anscheinend gesicherten Befunden widersprechende Ansicht von Wille¹⁾, die vermeintlichen Schwefelkörnchen seien Gasvakuolen, die bei Temperaturen weit unter dem Schmelzpunkt des Schwefels verschwinden und in Alkohol leicht löslich sein sollen. Auch Gasperini bezweifelt auf Grund der leichten Löslichkeit der intrazellulären Tröpfchen in Essigsäure deren Schwefelnatur. Corsini²⁾ bestätigte zwar die Beobachtung, daß die Schwefeltropfen durch Essigsäure aus den Fäden entfernt werden, fand sie aber in Form von Schwefelkristallen außerhalb der Zellen wieder.

Die bei der Oxydation des Schwefels gebildete Schwefelsäure läßt sich durch Fällung mit stark verdünntem Bariumchlorid auch in den mikroskopischen Kulturen nachweisen.

Winogradsky unterschied neben der schon von Trevisan aufgestellten freischwimmenden Gattung *Beggiatoa* die gewöhnlich festsitzende, aber eines Schwimmezustandes fähige, ebenfalls fadenförmige *Thiothrix*. Die Riesen unter den *Beggiatoen* und überhaupt die größten Formen unter allen Bakterien, die *Begg. mirabilis*, beschrieb Hinze³⁾ genauer. Die Fadendicke erreicht 45 μ . Außer fadenförmigen gibt es auch rundliche Schwefelbakterien, nämlich Warmings *Monas Mülleri* und *fallax*, Jegunows 2 Arten (s. o.), die mächtige *Thiophysa volutans*, die Hinze⁴⁾ im Sande einer submarinen Schwefelquelle fand, ferner auch schwefelhaltige Spirillen (Omeliansky⁵⁾). Es scheint also die Form der farblosen Schwefelbakterien ebenso mannigfach zu sein, wie die der Purpurbakterien.

§ 209. **Purpurbakterien.** Von den farblosen Schwefelbakterien, die wir eben besprochen, unterscheiden sich die Purpurbakterien, von ihrer gewöhnlich anderen Gestalt abgesehen, durch den Besitz eines roten, rotvioletten oder braunroten Pigments (Bakteriopurpurin), das ihre Körper ziemlich gleichmäßig, aber in sehr verschiedener Stärke färbt. Alle Purpurbakterien besitzen neben dem roten auch ein grünes Pigment, das Bakteriochlorin. (Genaueres über diese Farbstoffe s. § 253.)

Die Biologie der Purpurbakterien ist von Ray-Lankaster⁶⁾, Warming⁷⁾, Engelmann⁸⁾ und Winogradsky⁹⁾ und

1) Biol. Zentralbl. 1902. 257.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 14, 1905.

3) Ber. bot. Gesellsch. 1901. 369.

4) Ebenda 1903. 309.

5) Lafars Handb. 3. 231, 1905.

6) Quarterl. Journ. micr. sc. 13, 1873 und 16, 1876.

7) Nach Winogradsky.

8) Pflügers Arch. 30, 1883, und 42, 1888; Botan. Zeitg. 1888. 661.

9) Beitr. z. Morphol. u. Phys. d. Bakterien I. Leipzig 1888.

neuerdings von M o l i s c h¹⁾ genauer studiert worden (s. u.). Über die Bedeutung der Farbstoffe war man lange Zeit im Unklaren. E n g e l m a n n hatte ursprünglich bei seinem „Bact. photometricum“ Ausscheidung von Sauerstoff im Licht nicht beobachtet, glaubte sie aber in späteren Versuchen ebenso bestimmt nachweisen zu können. Sein Verfahren bestand darin, daß er luftbedürftige Bakterien, wie Spirillen und Infusorien, zu einer Kultur von Purpurbakterien brachte und sie unter dem Deckglas mit Vaseline gegen die Luft abschloß. Wenn der im Wasser gelöste Sauerstoff verbraucht ist, kommen nach seiner Beobachtung die beweglichen Aërobier im Dunklen schnell zur Ruhe, werden aber sofort beweglich und streben der Kolonie der Purpurbakterien zu, sobald diese belichtet werden. Grüne chlorophyllhaltige Organismen scheinen zunächst ganz ähnlich zu wirken, doch zeige sich ein Unterschied, wenn man den Einfluß der einzelnen Teile des Spektrums untersuche: während das Chlorophyll nur in rotem Lichte aus der Kohlensäure Sauerstoff abspaltet, sei das Bakteriopurpurin nur dazu imstande, wenn es von ultraroten, den sogenannten dunklen Wärmestrahlen getroffen werde. Nach E n g e l m a n n hätten wir es also bei den Purpurbakterien mit Organismen zu tun, die wie die grünen Pflanzen die Kohlensäure assimilieren, dies aber nicht mit Hilfe des Chlorophylls, sondern des Bakterienpurpurs leisten können. W i n o g r a d s k y hat zwar die Versuche E n g e l m a n n s nicht wiederholt, hielt aber auf Grund der Widersprüche zwischen E n g e l m a n n s früheren und späteren Ergebnissen die Frage noch nicht für endgültig entschieden. Auch nach seinen Beobachtungen würden zwar die Purpurbakterien durch das Licht beeinflußt — siedeln sie sich doch stets an der nach dem Licht zu gelegenen Seite der Kulturgefäße an —, die Ursache soll aber nicht ihr eigener Farbstoff sein, sondern das chlorophyllartige Pigment von „grünen Bakterien“, die sich immer in Gesellschaft der roten Bakterien befinden (§ 253). Künstliche Einführung solcher grünen Bakterien begünstige die Entwicklung der roten Organismen erheblich.

W i n o g r a d s k y glaubt weiter mit Hilfe seiner Mischkulturen nachweisen zu können, daß die Ernährungsbedingungen ähnliche seien wie die der farblosen Schwefelbakterien. Geringste Spuren organischer Nährstoffe, z. B. buttersauren Kalks, scheinen zu genügen, wenn daneben Schwefelwasserstoff geboten wird. Von dem letzteren vertragen die roten Bakterien größere Mengen als die Beggiatoen, denn selbst in konzentrierten Lösungen von H_2S gedeihen sie noch gut. Auch sie lagern Schwefeltröpfchen ab und oxydieren sie zu Schwefel-

1) Purpurbakterien, Jena 1907.

säure. Eisen- und Mangansalze begünstigen ihre Entwicklung, vielleicht, weil sie zur Bildung des Farbstoffes nötig sind.

Durch die Arbeit Molischs, dem es gelang, einige Arten rein zu züchten, ist die Frage nach der Bedeutung des Farbstoffs für die Purpurbakterien anscheinend endgültig in dem Sinne beantwortet worden, daß er sie nicht befähigt, die Kohlensäure unter Sauerstoffabspaltung zu assimilieren, daß die Bakterien vielmehr am besten in konzentrierten organischen Nährböden gedeihen, wobei Licht und Farbstoff allerdings hier gegenüber den organischen Nährstoffen eine ähnliche Rolle zu spielen scheinen, wie bei der Assimilation der Kohlensäure durch die grünen Pflanzen. Dabei stellte sich gleichzeitig heraus, daß ein großer Teil der Purpurbakterien, wie es schon Nadson¹⁾ gefunden, des Schwefelwasserstoffes gar nicht zur Ernährung bedarf, und auch keinen Schwefel ablagert, daß ferner die meisten Purpurbakterien mehr oder weniger luftschon, einige sogar strenge Anaerobier sind (S. 101). Molisch teilt danach die Purpur- oder Rhodobakterien in zwei Gruppen, die Thiorhodaceen und Athiorhodaceen. Leider ist es auch Molisch noch nicht gelungen, die ersteren rein zu züchten. So bleibt die Frage nach der Bedeutung des Schwefels für die Purpurbakterien, die nach Molischs Erfahrungen mindestens in einem anderen Lichte erscheint als früher, vorläufig noch offen.

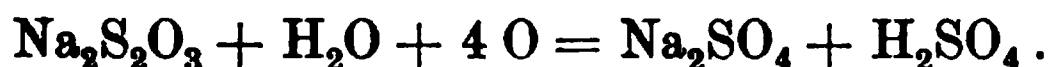
Die Purpurbakterien finden sich nicht selten in Schwefelquellen, jedoch lange nicht so häufig wie die Beggiatoen; in manchen Sumpfwässern sind sie so zahlreich, daß sie auffallende Trübungen hervorrufen. Am sichersten erhält man sie nach Molisch, wenn man tierische oder pflanzliche Abfälle, Leichen u. dgl. in schmalen hohen Standzylindern mit Fluß- oder Meerwasser wochen- oder monatelang dem Sonnenlicht aussetzt. Um Reinkulturen zu erhalten, benutzt man am besten Schüttelkulturen in hohen Reagensgläsern, die man lange beobachten muß, weil die Kolonien langsam zu wachsen pflegen. Als Nährboden eignet sich Agar (oder Gelatine) mit Mineralsalzen, 0,5—1% Pepton und Glyzerin oder Dextrin; aber auch die sonst üblichen Nährböden, z. B. Kartoffeln, gestatten das Wachstum. Die Gruppe der Purpurbakterien ist — wie die der Schwefel- und Chlorophyllbakterien — sehr vielgestaltig und wiederholt sämtliche sonst bekannten Bakterienformen. Vgl. Systematik bei Winogradsky, Migula (System der Bakterien 2. Bd., 1900) und Molisch, ferner unser Bakteriensystem § 359.

§ 210. Andere Erreger der Schwefelsäuregärung. Im großen und ganzen wie die Schwefel- und Purpurbakterien verhalten sich

1) Botan. Zentr. 1896. 90, 1904.

manche andere Bakterien, die aber deswegen lange der allgemeinen Aufmerksamkeit entgangen sind, weil sie weder prächtige Farbstoffe bilden, noch Schwefel in ihrem Leibe aufspeichern. Ihr Studium durch Nathanson und Beijerinck hat die wichtige Tatsache festgestellt, daß es außer den Salpeterbakterien noch andere Kleinwesen gibt, die ohne Beihilfe des Lichts Kohlensäure assimilieren (vgl. S. 121).

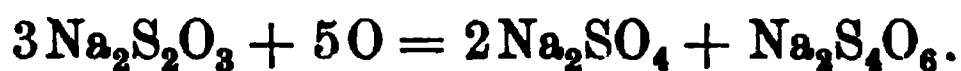
Nathanson¹⁾ sah solche Bakterien sich entwickeln, als er Seewasser, mit einem Zusatz von Schwefelkalium versehen, mit etwas Material impfte, das echte Schwefelbakterien (§ 208 ff.) enthielt (Meereschlamm?). Statt der letzteren traten regelmäßig dicht unter der Oberfläche der Lösung kleine lebhaft bewegliche, farblose Bazillen auf. Sie ließen sich weiter züchten in Seewasser, das höchstens 1% unterschwefligsaures Natrium (Natriumthiosulfat $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), aber keine organischen Stoffe enthielt. Auf ähnlich zusammengesetztem Agar konnten verschiedene Arten in Reinkultur isoliert werden. Ebenso günstig erwies sich eine künstliche Lösung, die 3% NaCl , 0,25% MgCl_2 , 0,1% KNO_3 , 0,05% Na_2HPO_4 , 0,2—1% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ und etwas MgCO_3 in Substanz erhielt. Wurde das Karbonat weggelassen, aber der Zutritt kohlensäurehaltiger Luft nicht gehindert, so erfolgte Entwicklung, wenn auch bedeutend langsamer. Karbonat allein ermöglichte ein ebenso gutes Wachstum, ob man die Luft vorher von ihrem Kohlen säuregehalt befreite oder nicht. Wurde gar keine Kohlensäure in der einen oder anderen Form verabreicht, so blieb die Entwicklung vollständig aus. Zusätze von Nährstoffen wie Zucker, Glyzerin, Tartrat, Formiat, Oxalat, Harnstoff änderten an diesen Verhältnissen nichts. Sie waren unschädlich für die Bakterien, wurden aber offenbar von ihnen nicht angegriffen. Die Assimilation der Kohlensäure war dadurch bewiesen. Schwieriger war es, die Veränderungen des Schwefels im Stoffwechsel dieser Bakterien festzustellen. Man konnte zunächst daran denken, daß aus der Oxydation des Thiosulfats teils freie, teils gebundene Schwefelsäure hervorginge nach der Formel:



Doch sprach dagegen, daß die schwache Alkalinität der Nährlösung, die keinen Karbonatzusatz erhalten hatte, unverändert blieb. Nathanson kam deswegen auf die Vermutung, daß die Oxydation nicht bis zur Schwefelsäure, sondern nur bis zur Di- oder Tri- oder Tetrathionsäure fortschreite. In der Tat erwies sich, wie eine Analyse

1) Mitteil. d. zool. Stat. Neapel 15. 655, 1902.

des gesamten Schwefelumsatzes ergab, die letztere Vermutung als richtig¹⁾: die Oxydation verläuft nach der Formel:



Während der Prozeß innerhalb der Bakterienzellen vor sich geht und dabei kein freier Schwefel abgelagert wird, scheidet sich außerhalb der Zelle um die Bakterienkolonien und auf der Oberfläche der Nährlösungen eine große Menge freien Schwefels ab, und zwar nach N a t h a n s o n s Ansicht auf Grund einer nicht näher studierten Umsetzung des tetrathionsauren Natriums mit dem Natriumthiosulfat. Merkwürdigerweise schied sich aber der Schwefel nicht unmittelbar um die Kolonie aus, sondern ließ einen schmalen Hof frei. Man konnte daher an eine extrazelluläre Oxydationswirkung denken. N a t h a n s o n hat eine solche auch in den Filtraten der Kulturen gefunden. Zyaninlösung wurde augenblicklich entfärbt, Tetramethylparaphenylendiamin gebläut, ohne daß eine Reaktion auf salpetrige Säure hätte erzielt werden können. Guajak-tinktur und Indigokarmin blieben dagegen unverändert. Aufkochen störte die Reaktion nicht. Es könnte sich vielleicht um ein perschwefelsaures Salz handeln.

B e i j e r i n c k²⁾ glaubte die Ergebnisse N a t h a n s o n s durch seine Untersuchungen in gewisser Beziehung abändern zu müssen. Nach ihm sind ähnliche Bakterien („Thiobazillen“) nicht nur im Salzwasser, sondern auch im Süßwasser weit verbreitet und lassen sich z. B. aus Grabenschlamm in einer Lösung, die 0,5% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,1% NaHCO_3 , 0,02% K_2HPO_4 , 0,01% NH_4Cl , 0,01% MgCl_2 enthält, leicht heranzüchten und dann auf Agar isolieren.

Nach B e i j e r i n c k verläuft die Schwefelumsetzung einfacher, nämlich nach der Gleichung:

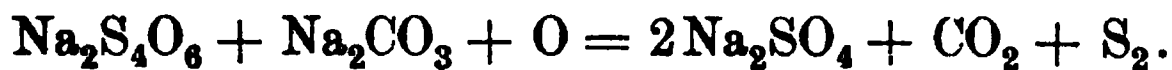


Dadurch wäre die reichlich erfolgende Schwefelausscheidung und das Ausbleiben der sauren Reaktion gleichzeitig erklärt. N a t h a n s o n (s. o.) hatte geglaubt, diese Reaktion schon deshalb ablehnen zu müssen, weil sie außerhalb der Zellen erfolge, also nicht der Assimilation dienstbar gemacht werden könne. Da B e i j e r i n c k keine Analyse, die seine Auffassung bestätigt, mitteilt, wird man weiteres abwarten müssen.

1) Die Bestimmungsmethode der Schwefelverbindungen s. in der Arbeit; vgl. auch § 212.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 593, 1904.

In ähnlicher Weise soll auch Schwefelwasserstoff oder Kalziumsulfid und Tetrathionat, nicht aber Dithionat oxydiert werden:



Mindestens würde danach ebensoviel Schwefel frei werden, wie zu Schwefelsäure oxydiert würde. Das widerspricht den Ergebnissen Nathansons, der nur den vierten Teil des Schwefels sich abscheiden sah.

Das Ammonsalz kann durch Salpeter, das Bikarbonat durch Soda ersetzt werden, doch wirkt die locker gebundene Kohlensäure günstiger. Auch Beijerinck findet Harnstoff, Ameisensäure, Oxalsäure usw. unbrauchbar zur Ernährung seiner Bakterien.

Eine genaue Stoffwechselrechnung hat auch Beijerinck nicht aufgestellt. Die Menge der von diesen Mikroorganismen neugebildeten Substanz ist aber jedenfalls recht gering im Verhältnis zu der Menge der zersetzten Schwefelverbindungen.

Der Schwefel dient weiter als Energiequelle nicht nur bei der Assimilation der Kohlensäure, sondern auch bei der Reduktion der Nitrats, oder besser gesagt, der Sauerstoff, der den Schwefel zu dieser Leistung befähigt, kann sowohl der Atmosphäre als der Salpetersäure (§ 198) entnommen werden. Beijerinck hat Mikroorganismen, die gleichzeitig Schwefelsäure- und Stickstoffgärung verursachen (*Thiobacillus denitrificans*) aus Grabenwasser gezüchtet, dem er 10% Schwefel und 2% CaCO_3 als Pulver, und 0,05% KNO_3 , 0,02% Na_2CO_3 , 0,02% K_2HPO_4 , 0,01% MgCl_2 in Lösung beigegeben. Wird diese Mischung in bis oben gefüllten gut verschlossenen Flaschen gehalten, so entwickelt sich bald ein Stickstoffstrom, der Salpeter verschwindet, ein Teil des Schwefels und des kohlensauren Kalks geht dabei in Lösung. Neuer Zusatz von Salpeter unterhält den Prozeß. Durch Übertragung auf Nährlösungen, die ebenso wie oben, aber mit reinem Wasser angefertigt sind, reinigt man die Erreger von Beimengungen und kann sie schließlich auf Agarnährböden, denen man Thiosulfat statt des Schwefels beigegeben, isolieren. Dieses Salz wird, unter geringer Schwefelabscheidung, oxydiert, während die Thiobazillen, die wir früher kennen gelernt, dabei reichlich Schwefel ablagern. Auch in Fleischwassernährböden läßt sich dieser Thiobazillus züchten, wenn man sie mit Wasser verdünnt und ihnen Thiosulfat zusetzt. Hier wird aber viel Schwefel abgeschieden, wohl weil die Oxydation nicht eine so kräftige ist. Es verdiente genau festgestellt zu

werden, wie sich die Bakterien zu den Kohlenstoffverbindungen verhalten, ob sie im Gegensatz zu den übrigen Mikroorganismen, die Kohlensäure assimilieren, auch organische Stoffe ausnutzen können.

Nach Beijerinck verläuft die Reduktion des Nitrats und Oxydation des Schwefels in folgender Weise:



Sie ist sehr energisch, denn in einer Flasche mit 210 ccm Lösung wurden binnen 12 Tagen 900 mg Salpeter, die allmählich zugesetzt waren, zum Verschwinden gebracht. Die dazu rechnerisch nötige Schwefelsäuremenge von 0,4325 g (als Bariumsalz) fand Beijerinck allerdings nicht wieder, sondern nur 0,283 g. Möglicherweise haben andere Mikroorganismen, die in der Mischkultur vorhanden waren, die Erscheinungen verwickelt.

Auch die Rhodanate (thiozyansauren Salze wie CNSK), die in der Natur in kleinen Mengen, z. B. im Speichel des Menschen vorkommen, und denen man eine antiseptische Wirkung auf Bakterien zuschreibt (s. Infektionslehre), werden nach Beijerinck unter reichlicher Abscheidung von Schwefel zersetzt. Genaue Angaben fehlen.

Auffallenderweise soll nach van Delden¹⁾ auch das *Spir. desulfuricans* (s. u. § 212), das Sulfate sehr kräftig zu Schwefelwasserstoff reduziert und streng anaërob wächst, in seinen Kolonien in Gelatine Schwefel abscheiden. Van Delden betrachtet als Ursache eine Oxydation des H_2S , vielleicht ist es aber nur eine unvollkommene Reduktion der Schwefelsäure.

§ 211. Reduktion des Schwefels und seiner Verbindungen. Den mannigfachen Oxydationsprozessen, denen der Schwefel und seine Verbindungen unterliegen (§ 207—210), stehen Reduktionen gegenüber. Daß der Schwefelwasserstoff aus organischen Verbindungen, vor allem aus Eiweiß nicht durch eigentliche Reduktion, wie man wohl angenommen hat, sondern wohl durch intramolekulare Spaltung entsteht, haben wir schon S. 639 gesehen. Wohl unterliegt aber der Schwefel einer wirklichen Reduktion, wenn er mit lebendem Eiweiß in Berührung kommt. So lehrten schon ältere Erfahrungen, daß gärende Hefe gepulverten Schwefel zum Teil in Schwefelwasserstoff verwandelt²⁾, daß Schimmel-

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 90, 1903.

2) Dumas, Ann. chim. phys. 5. sér. 3. 92, 1874.

pilze¹⁾ Schwefel und Schwefelantimon, anaërobe Bakterien²⁾ Schwefel in reinem Zustande und in vulkanisiertem K a u t s c h u k ebenfalls zu Schwefelwasserstoff reduzieren. Eine Hefeaufschwemmung und alle möglichen Bakterien- und Schimmelkulturen leisten nach R u b n e r ³⁾ dasselbe. Wie Schwefel verhält sich nach P e t r i und M a a ß e n ⁴⁾ u n t e r s c h w e f l i g s a u r e s N a t r i u m (Thiosulfat $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), nach B e i j e r i n c k ⁵⁾ auch s c h w e f l i g s a u r e s ⁶⁾, t e t r a - t h i o n s a u r e s und p e n t a t h i o n s a u r e s N a t r i u m. Die H_2S -Menge ist dabei viel größer, als diejenige, welche die Mikroorganismen durch ihre Tätigkeit aus Eiweißstoffen abspalten.

Nicht nur Mikroorganismen reduzieren den Schwefel, sondern ebenso die Gewebe höherer Pflanzen, insbesondere in den Vegetationspunkten⁷⁾, ferner alle tierischen Säfte und Organe, Eiweiß, Eidotter (d e R e y - P a i l h a d e ⁸⁾, R ö s i n g ⁹⁾). Die künstliche Koagulation der Eiweißkörper, das Aufkochen der Kulturen hebt ihre Wirkung auf. R ö s i n g hat sich diese Wirkung so erklärt, daß er dem natürlichen Eiweiß die Fähigkeit zuschrieb, bei Gegenwart des Schwefels das Wasser zu spalten: der Wasserstoff gehe dabei an den Schwefel, das Hydroxyl oxydiere das Eiweiß. Eine gewisse Stütze erhält diese Anschauung dadurch, daß durch vorherige Einwirkung schwach oxydierender Stoffe (Ferrizyankalium, Kaliumpermanganat, Jod) dem natürlichen Eiweiß die reduzierende Wirkung genommen werden kann und koaguliertes Eiweiß durch diese Mittel nicht mehr oxydiert wird.

Die einfache chemische Auffassung R ö s i n g s fand keine durchgehende Bestätigung in anderen Reaktionen. So blieb Schwefelwasserstoff aus, wenn man Schwefel mit Rohrzucker und Invertase oder mit Amygdalin und Emulsin zusammenbrachte, obwohl bei diesem Prozeß auch eine Spaltung des Wassermoleküls eintritt, man also hätte annehmen können, daß der Schwefel daran sich beteiligen würde. Ebenso wenig gelang es beim Zusammenbringen von anderen reduktionsfähigen Elementen, wie Selen, Arsen und Antimon mit Eiweiß die entsprechenden Wasserstoffverbindungen nachzuweisen (vgl. § 214, 215). Schließlich

1) S e l m i, Ber. chem. Ges. 1874, 1642.

2) M i q u e l, ebenda 1879. 2152 (nach P e t r i und M a a ß e n s. u.).

3) Arch. f. Hyg. 16. 58, 1893.

4) Arbeit. Gesundheitsamt 8. 348, 1893.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 1. 5, 1895 und 6. 193, 1900.

6) Vgl. aber S a l t e t ebenda 6. 702.

7) P o l a c c i, Ber. chem. Ges. 1876. 841.

8) Bull. soc. chim. Paris 1890. 171 und Compt. rend. ac. sc. 106. 1683, 1888; 118. 1201, 1894.

9) Dissertation Rostock 1891.

läßt das wechselnde Verhalten einiger eiweißhaltiger Stoffe, wie z. B. der Milch, daran denken, daß die reduzierende Fähigkeit weniger den Eiweißkörpern selbst anhaftet, als bedingt wird durch die Beimischung eines die Reaktion vermittelnden fermentartigen Körpers¹⁾. In der Tat hat de Rey-Pailhade gezeigt, daß man aus Hefekulturen einen schwefelreduzierenden Stoff ausziehen kann, indem man 100 g frischgepreßte Bierhefe in 55 g glykosehaltigem Wasser verteilt, nach und nach 45 g 90prozentigen Alkohols zusetzt, das Gemisch in verschlossener Flasche bei 0° aufbewahrt, durch Porzellan filtriert und das Filtrat mit der Luftpumpe von Kohlensäure befreit. Die so gewonnene Flüssigkeit bildet aus Schwefelpulver H_2S , absorbiert außerdem Sauerstoff und produziert bei Luftabschluß Kohlensäure. Den reduzierenden Bestandteil hat der französische Verfasser Philothion genannt. Auch in tierischen Organen hat er ihn gefunden, ihn daraus aber nicht mit Hilfe der Alkoholbehandlung ausziehen können. Das Philothion wird schon durch den Sauerstoff der Luft in einigen Tagen, bei 70° in 2 Stunden, durch Chlor, Brom und Jod sofort zerstört, kann also vielleicht als ein Enzym, eine „Reduktase“ aufgefaßt werden. M. Hahn²⁾ hat wie Wroblewski³⁾ nachgewiesen, daß der zellfreie Preßsaft der Hefe — mit oder ohne Luftzutritt — dieselbe reduzierende Wirkung auf Schwefel und besonders auf Thiosulfat entfaltet, sie auch in abgelagertem Zustande lange behält und erst bei 55° zum Teil, bei 65° im wesentlichen einbüßt. Mit der Gärkraft, der Zymasewirkung (§ 89) hat sie also nichts zu tun, ist auch verschieden von dem reduzierenden Vermögen, das der Preßsaft gegenüber Farbstoffen wie Methylenblau entfaltet (§ 161). Offenbar hat Hahn das Philothion de Rey-Pailhades in kräftigerem Zustand in Händen gehabt. Auch die Preßsäfte des Tuberkelbazillus und *Vibrio phosphorecens* entwickelten H_2S mit Thiosulfat, nicht die der Choleraspirillen, der roten Sarzine und des Typhusbazillus. Maassen⁴⁾ fand ebenfalls den Preßsaft des Petrischen Butterbazillus und zerriebene Azetondauerpräparate des *Bac. proteus mirabilis* und *Vibrio phosphorescens* fähig, aus freiem Schwefel (und zum Teil auch aus Witteschem Pepton S. 640) bei 45° innerhalb einiger Stunden nachweisbare Schwefelwasserstoffmengen zu entwickeln. Die Preßsäfte von Schimmelpilzen und Hefe, nament-

1) Neuerdings will Heffter (Hofmeisters Beitr. 5. 232, 1904) in dem Gehalt des Eiereiweißes an Merkaptanen die Quelle der H_2S -Bildung sehen.

2) Zymasegärung (Bucher und Hahn 1903. S. 341).

3) Ber. chem. Gesellsch. 1898. 3218.

4) Arbeit. Gesundheitsamt 21. 3, 1904.

lich aber die zerriebenen Organe von Pflanzen und Tieren waren viel wirksamer. Die reduzierenden Stoffe der letzteren besaßen übrigens auch eine größere Widerstandsfähigkeit, waren z. B. in einem gewissen Grade kochfest (S. 640). Der Hauptsache nach haften sie den u n g e l ö s t e n Bestandteilen des Protoplasmas an.

Der Eindruck, daß es sich auch bei diesem Prozeß um fermentartige Wirkungen, nicht um einfache chemische Reaktionen handelt, wird durch diese Tatsachen nur verstärkt.

§ 212. Sulfatreduktion. Schwefelwasserstoffgärung. Nachdem wir im vorstehenden die Reduktion der übrigen Schwefelverbindungen kennen gelernt, haben wir uns jetzt mit der der Sulfate zu beschäftigen. Daß schwefelsaure Salze von Mikroorganismen — ebenso wie von höheren Pflanzen — zu ihrer Ernährung verwendet werden, haben wir schon S. 93 gesehen. Das geschieht sogar nach R u b n e r selbst dann, wenn andere (organische) Schwefelverbindungen in der Nährflüssigkeit vorhanden sind (S. 634). Daß H_2S dabei, wenn auch nur vorübergehend, entsteht, ist bisher allgemein nicht nachgewiesen, aber doch wohl anzunehmen. In bestimmten Fällen ist übrigens der Beweis geliefert, daß die Schwefelsäure reduziert wird. So haben S t o c k v i s und S a l t e t ¹⁾ aus Grabenwasser einen Bac. desulfuricans gezüchtet, der die Sulfate teilweise zu weniger stark oxydierenden Körpern, vielleicht zu schwefliger Säure, reduzieren kann²⁾. Viel energischer werden die Sulfate von dem Spirillum (Microspira) desulfuricans B e i j e r i n c k s ³⁾ und dem Spir. aestuarii v a n D e l d e n s ⁴⁾ angegriffen und dabei der Hauptsache nach zu Schwefelwasserstoff reduziert. Das erstere Bakterium findet sich im Schlamm des Süßwassers und ziemlich überall in der Erde, das letztere im Sande des Meeresufers und im Meerwasser selbst; ihre Wachstumsbedingungen sind, wenn man von dem verschiedenen Chlornatriumbedürfnis absieht, ähnliche. Nach v a n D e l d e n erhält man Rohkulturen des Spir. desulfuricans, wenn man etwas Schlamm aus sehr stark verunreinigten Gräben in einer Lösung von 0,5% Natriumlaktat, 0,1% Asparagin, 0,1% Magnesiumsulfat oder Gips, 0,05% Kaliumbiphosphat und einer Spur Ferrosulfat unter Sauerstoffabschluß (in einer geschlossenen Flasche) züchtet. Die Flüssigkeit trübt sich allmählich und zeigt durch die Schwarzfärbung (Schwefeleisen) die Bildung von Schwefelwasserstoff an. Zuviel organische Substanz hemmt die Schwefelwasserstoff-

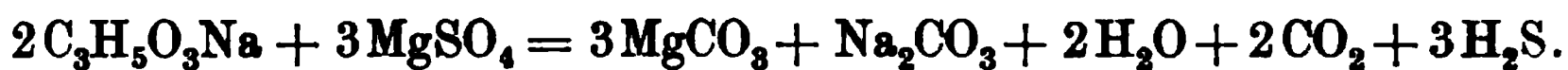
1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 6. 697, 1900.

2) Vgl. aber B e i j e r i n c k, ebenda 844.

3) Ebenda 1. 1, 1895; 6. 193, 1900.

4) Ebenda 11. 81, 1903.

gärung, weil ihre Erreger dann durch andere Bakterien überwuchert werden. Aus angereicherten Kulturen gelingt es, in hohen Schichten eines ähnlich zusammengesetzten Gelatinenährbodens die Spirillen herauszuzüchten. Außer den milchsauren sind auch äpfelsaure und bernsteinsaure Salze und von Stickstoffverbindungen außer Asparagin auch Pepton und Ammoniaksalze zur Ernährung der Spirillen geeignet; Salpeter (0,02%) wird ebenfalls assimiliert, hindert aber zunächst, bis er zu Ammoniak reduziert ist, die Schwefelwasserstoffgärung. Diese verläuft, wie v a n D e l d e n durch Messung der H_2S - und CO_2 -Produktion festgestellt hat, ziemlich genau nach der Gleichung¹⁾:



Der Sauerstoff des Sulfats oxydiert also den Kohlenstoff der Milchsäure vollständig zu Kohlensäure. Wieviel Bakteriensubstanz dabei gebildet wird, wissen wir vorläufig nicht. Schwefelwasserstoff wird in sehr erheblicher Menge entwickelt, bis zu 246 mg H_2S im Liter beim Spir. desulfuricans und sogar bis zu 952 mg beim Spir. aestuarii. Die Bakterien vertragen anscheinend diese starke Konzentration des sonst giftigen Gases recht gut.

Die Kolonien der Spirillen auf festen Nährböden zeichnen sich wie die der sulfatbildenden Mikroorganismen dadurch aus, daß sich in ihnen zwischen den Bakterien Schwefel ablagert. Da sie streng anaërob wachsen, kann es sich um keine Oxydation von Schwefelwasserstoff handeln, sondern nur um eine beschränkte Reduktion der Schwefelsäure, die auf halbem Wege Halt macht. In länger fortgezüchteten Kulturen des Spir. desulfuricans soll diese Fähigkeit der Schwefelbildung verloren gehen.

Die Bedeutung der Beijerinckschen Spirillen für den Kreislauf des Schwefels in der Natur liegt auf der Hand. Sie bewirken im größten Maßstabe den Übergang der schwefelsauren Salze teils in Sulfide, vor allem das Eisensulfid, das die schwarze Farbe des Schlammes in Gräben, Seen und manchen Meeren (schwarzes Meer) verursacht und in freien Schwefelwasserstoff, auf dem der faule Geruch der stehenden Wässer wesentlich beruht²⁾. Die Fäulnisbakterien, die

1) Dabei werden etwa 277 Kal. entwickelt, wenn man die Energiegleichung für die freien Säuren aufstellt, aber die Löslichkeit der Kohlensäure berücksichtigt. Der Wärmewert der Reaktion ist viel geringer, als wenn dieselbe Kohlenstoffverbindung durch freien Sauerstoff verbrannt wird, weil die Reduktion der Schwefelsäure einen großen Aufwand von Energie erfordert. Ist doch $\text{H}_2\text{SO}_4 = \text{H}_2\text{S} + \text{O}_4$ (— 135,2 Kal.). Vgl. § 225.

2) Ob die „Verderbnis“ des Talsperrenwassers im Sommer (S. 580) sich ebenso erklärt, steht dahin.

aus organischen Stoffen denselben Stoff entwickeln, finden für ihre Wirksamkeit ein verhältnismäßig beschränkteres Feld (vgl. § 168 ff. u. 205).

Der Schwefelwasserstoff (s. auch S. 636) wird am einfachsten durch Titration mit Jodlösung bestimmt. Diese Methode ergibt aber wechselnde Resultate. Manchmal stimmt, wie die Tabellen v a n D e l d e n s beweisen, die Menge des gefundenen H_2S mit der der verschwundenen SO_2 zusammen, häufig bleibt aber ein mehr oder weniger großer Verlust, der bis zur Hälfte der Schwefelsäure betragen kann. Man könnte ihn sich entstanden denken durch die Bildung unvollkommener Reduktionsprodukte, z. B. Sulfite, Thiosulfate oder Tetrathionate und reinen Schwefels. Der letztere scheidet sich schon bei Luftzutritt aus der H_2S ab, entsteht durch die Einwirkung der Eisensalze, die als Indikator dienen, wird aber auch bei Luftabschluß von den Bakterien selbst ausgeschieden (s. o.). Sulfite werden dadurch zur Fehlerquelle, daß sie bei saurer Reaktion, bei der die Titrierung stattfindet, schweflige Säure abspalten, die unter Schwefelabscheidung sich mit dem H_2S umsetzt. Thiosulfat wird durch Jod in Jodmetall und Tetrathionat verwandelt; wenn man es als Schwefelwasserstoff berechnet, erhält man also viel zu wenig Schwefel. Tetrathionat seinerseits reagiert gar nicht auf Jod, verursacht also, wenn es in reichlicher Menge gebildet wird, einen großen Verlust. Eine Bestimmungsmethode, die allen Möglichkeiten gerecht wird, muß noch gefunden werden. N a t h a n s o n (S. 649) gelangte bei seinen Schwefelbestimmungen aus dem zufälligen Grunde zu gut übereinstimmenden Resultaten, weil seine schwefeloxydierenden Bakterien kein anderes Zwischenprodukt bildeten, als Tetrathionat. Er fand die Menge des letzteren, indem er die durch Bariumchlorid unmittelbar erhaltene Sulfatmenge von derjenigen abzog, die nach Oxydation der Flüssigkeit mit Brom gewonnen wurde.

Kapitel XII.

Wandlungen anderer anorganischer Stoffe.

§ 213. Einleitung. Wandlungen des Phosphors. Außer den in den vorhergehenden Abschnitten besprochenen Stickstoff- und Schwefelverbindungen (Kap. X u. XI), dem freien Stickstoff (§ 201 ff.), Schwefel (§ 207 u. 211) und der Kohlensäure (§ 196 u. 210) werden auch andere anorganische Stoffe¹⁾ von den Mikroorganismen in ihren Stoffwechsel gezogen. Kalium-, Natrium-, Magnesium-, Kalzium- und Eisensalze der Chlorwasserstoff-, Schwefel-, Salpeter-, Phosphor- und Kohlensäure werden in verschiedener Weise benutzt (§ 30). In welcher Form es geschieht, welchen Wandlungen sie dabei unterliegen, ist nur wenig bekannt. Daß sie bei dem Aufbau der Körpersubstanzen, und zwar in erster Linie des Eiweißes, eine gewisse Rolle spielen, ist aus den Analysen der Mikroorganismen selbst (Kap. II) wie aus den Erfahrungen, die man sonst über die Zusammensetzung des Protoplasmas gemacht hat, zu schließen. Nur haben wir gesehen, daß manche Bakterien und Pilze geringere Ansprüche an die anorganische Nahrung erheben, als die höheren Wesen. Mehr als die übrigen anorganischen Stoffe interessiert uns die Phosphorsäure, nicht nur wegen ihrer Unentbehrlichkeit, sondern auch weil wir von der Phosphorsäure annehmen können, daß sie bei der Synthese des Eiweißmoleküls teilweise mit diesem in engere Verbindung tritt (Phosphorproteide § 25). Eine Rolle spielt die Phosphorsäure weiter im Lezithin (§ 26). Die Phosphorsäure wird wieder als solche frei bei der Zersetzung der Eiweißstoffe, z. B. der Nukleinsäure und des Lezithins (§ 189), durch die Mikroben der Fäulnis und Verwesung. Diese Spaltungen sind wahrscheinlich enzymatischer Natur, wie wir aus den Befunden von Hahn und Goret bei der Verdauung des Hefepreßsaftes wissen (S. 495). Andererseits hat aber Iwanoff²⁾ gezeigt, daß durch tote Hefe, die aber noch

1) Vom Sauerstoff wird in Kap. XIII die Rede sein.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 50. 281. Zentr. Bakt. 2. Abt. 24, 1909.

gärungsfähig ist bzw. im Hefepreßsaft (S. 263), Phosphate auch in organische Bindung übergeführt werden können. Das würde für die Umkehrbarkeit des enzymatischen Vorgangs sprechen. Einfacherer Art, d. h. wohl auf bloße Lösung durch Säurebildung zurückzuführen sind die Veränderungen, die die Phosphate des Knochenmehls und Bodens durch Mikroben erfahren. Nach *Stoklasa, Duchacek und Pitra*¹⁾ sollen ammoniakbildende Bakterien wie der *Bac. mycoides* (S. 528) am meisten (bis zu 23%) Knochenphosphat lösen, und zwar durch die Kohlensäure, die sie nebenbei entwickeln. Allerdings fand *Stalström*²⁾, daß die gemischte Kohlensäure-Ammoniakgärung, die sich in Bouillon, Torfstreuung und Torf entwickelt, reines Trikalziumphosphat nur wenig, die Milch- und Buttersäuregärung, die Milch oder Milchzuckerlösungen eingehen, hingegen sehr kräftig löst. *A. Koch und Kröber*³⁾ sahen ebenfalls die Phosphorsäure des Knochen- und Phosphatmehles durch die Gärung in zuckerhaltigen Flüssigkeiten in Lösung gehen.

Auch andere Salze, z. B. kohlensaurer Kalk, können natürlich durch Kohlensäure oder organische Säuren, die im Stoffwechsel der Mikroorganismen entstehen, gelöst, und umgekehrt lösliche Salze, z. B. des Kalziums und Magnesiums, durch Bildung alkalischer Produkte (kohlensaures Ammoniak), die des Eisens und Bleis durch Schwefelwasserstoffentwicklung gefällt werden.

Einige Metalle verdienen deswegen eine gesonderte Betrachtung, weil von ihnen oder ihren Verbindungen eigentümliche Veränderungen bekannt sind, so das Selen und Tellur aus der Schwefelgruppe, das Antimon und Arsen aus der Stickstoffgruppe, ferner das Eisen und schließlich Chlor-, Brom-, Jodsauerstoffverbindungen. Eine wesentliche Bedeutung im Stoffwechsel der Kleinwesen selbst haben diese Prozesse wohl nur ausnahmsweise.

§ 214. Reduktion der selenigen und tellurigen Säure. Nach *Scheurlen*⁴⁾ und *Klett*⁵⁾ reduzieren fast alle daraufhingeprüften Mikroorganismen — darunter 27 Bakterien und verschiedene Schimmelpilze — die selenige und tellurige Säure zu Selen und Tellur. Die Reaktion wird in der Weise angestellt, daß zu den Nährböden von einer 2prozentigen sterilisierten Lösung des Natriumsalzes der selenigen Säure 2—10 Tropfen, der tellurigen Säure höchstens 1 Tropfen auf je

1) Hofmeisters Beitr. 3, 1902.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11, 1904.

3) Landwirtsch. Zeitg. 1906.

4) Zeitschr. f. Hyg. 33, 1900.

5) Ebenda.

10 ccm zugesetzt werden. Die darauf gesäten Mikroorganismen erzeugen, wenn sie sich überhaupt entwickeln, früher oder später Kolonien, die durch die Ausscheidung der Metalle rot oder schwärzlich-grau¹⁾ gefärbt sind. Der *Aktinomyces* wächst zwar nicht auf diesen Nährböden, seine fertigen Rasen zeigen aber gleichfalls die Reduktion. Die Wirkung ist bei den einzelnen Mikroben eine verschiedene. Teilweise hängt sie, wie sich von selbst versteht, von der Stärke des Wachstums ab, die bei vielen Arten ungünstig beeinflußt wird. Das erschwert natürlich die Beurteilung des Prozesses und seine Vergleichung mit anderen Reduktionen, die von den Verfassern übrigens nicht versucht wird. Von den bekannten Arten reduzieren *Bac. typhi*, *prodigiosus*, *coli* und *aërogenes*, *anthracis* und *Staphyl. pyogenes* kräftig, der *Fluorescens liquefaciens* schwach. Traubenzuckerhaltige Nährböden reduzieren schon ungeimpft bei 37°, sie sind also nur bei niedriger Temperatur zu verwenden. *G l o g e r*¹⁾ findet Übereinstimmung zwischen der Schwefelwasserstoffbildung und Reduktion der tellurigen Säure. Tuberkelbazillen, Pseudotuberkelbazillen, Diphtherie- und Pseudodiphtherie, *Bac. acidi lactici* (?) sollen nicht reduzieren.

Nach den Verfassern erhalten strenge Aërobier durch Beigabe der Metallsalze nicht die Fähigkeit, bei Sauerstoffabschluß zu wachsen; Anaërobier reduzieren anscheinend gar nicht, werden freilich auch schon durch kleinste Mengen in ihrer Entwicklung gehemmt, während das schwefligsaure Salz ihr Wachstum begünstigt.

Selensaure Salze werden durch Mikroorganismen nicht verändert, stören auch das Wachstum nicht.

Neuerdings hat *M a a ß e n*²⁾ nachgewiesen, daß die Zellen nicht lebendig zu sein brauchen, um die Metallreduktion zu bewirken. So reduzierte auch der zellfreie Preßsaft des *P e t r i* schen Butterbazillus, des *Penicillium brevicaulis*, und die Azetondauerpräparate des *Proteus mirabilis* und *Vibrio phosphorescens*, ferner zerriebene Organe von Pflanzen und Tieren tellurigsaures Natron. Es sind das nach *M a a ß e n* dieselben Stoffe, die auch Schwefelwasserstoff aus Schwefel (S. 654) entwickeln, Nitrat zu Nitrit (S. 612) und Methylenblau (S. 476) reduzieren. Genauere Vergleiche täten aber not.

1) *G o s i o* (Rendiconti Accad. Lincei 13, 1904) sah bei der Zersetzung des tellurigsauren Kaliums neben braunen bis schwarzen auch violette Töne (Polytelluride?). Nach ihm handelt es sich um eine Reaktion, die intrazellulär auftritt und eine Lebenserscheinung ist, die benutzt werden kann, um das Vorhandensein von Verunreinigungen in Flüssigkeiten, die keimfrei sein sollten, nachzuweisen. Vgl. auch Zeitschr. f. Hyg. 51, 1905 und *G l o g e r*, Zentr. Bakt. 40. 4.

2) Arbeit. Gesundheitsamt 21. 3, 1904.

§ 215. Reduktion des Arsens durch Schimmelpilze. Die Entstehung flüchtiger Arsenverbindungen aus festen war schon lange durch Erfahrungen sichergestellt, die man gelegentlich von Vergiftungen durch arsenhaltige Tapeten gemacht hatte. Daß Mikroorganismen, und zwar in erster Linie Schimmelpilze dabei im Spiele wären, wurde auch schon in den siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts von Selmi¹⁾ u. a. vermutet. Gosio²⁾ lieferte durch Reinkulturen den sicheren Beweis dafür, daß verschiedene Schimmelpilze imstande sind, Arsenverbindungen zu verflüchtigen. Fast von allen Seiten wurde das denn auch bestätigt. Mißerfolge von Emmerring³⁾ müssen auf ungeeignete Versuchsbedingungen zurückgeführt werden.

Abel und Buttenberg¹⁾ fanden von 40 Schimmelpilzstämmen verschiedenen Ursprungs 10, die mit der erwähnten Eigenschaft ausgestattet waren, darunter das *Penicillium brevicaulis*, *Aspergillus glaucus*, *niger*, *virescens* und *Mucor mucedo*. Weder Hefen noch Favuspilze, Aktinomycceten oder irgendein Bakterium besaßen die Fähigkeit; gerade die letztgenannten Mikroorganismen wurden vielmehr zum großen Teil schon durch die geringste Menge von Arsenik am Wachstum gehindert. Von den Schimmelpilzen waren einige wie der *Mucor* nur imstande, die Sauerstoffverbindungen des Arsens unter Bildung riechender Gase zu verflüchtigen, während andere, in erster Linie das *Penicillium brevicaulis*, auch die Schwefelverbindungen und das metallische Arsen kräftig angriffen. Die im Wasser unlöslichen oder schwer löslichen Arsenpräparate können in unbegrenzten Mengen in den Nährböden vorhanden sein, ohne das Gedeihen der Pilze zu beeinträchtigen, die löslichen Verbindungen ebenfalls, wenn eine Unterlage, wie etwa Brotbrei benutzt wird, der sich nicht gleichmäßig mit der Lösung durchtränkt. Aber auch in Nährlösungen, die 3—4‰ arsenige Säure enthalten, wächst das *Penicillium* unter lebhafter Knoblauchgeruchentwicklung. Die geringste Arsenmenge, die noch durch den Geruch in solchen Kulturen nachgewiesen werden konnten, war bei Abel und Buttenberg je nach der Verbindung 0,1—0,01 mg.

Die durch die Pilzwirkung entstandenen riechenden Stoffe bestehen zum kleinen Teil vielleicht aus Arsenwasserstoff, zum größeren aus organischen Verbindungen, die noch

1) Ber. chem. Gesellsch. 1874. 1642, vgl. vollst. Lit. bei Abel und Buttenberg, Zeitschr. f. Hyg. 32, 1899.

2) Archiv ital. de biol. 1892. 253; Hyg. Rundschau 1897. 1217; Ber. chem. Ges. 1897. 1024.

3) Ber. chem. Ges. 1896. 2728 und 1897. 1024.

unvollständig bekannt sind. Die Menge der Gase ist nach dem Geruch nicht zu beurteilen, sie ist im allgemeinen eine recht geringe trotz intensiven Gestankes¹⁾.

Nach A b e l und B u t t e n b e r g entwickeln A n t i m o n-, W i s m u t- und P h o s p h o rverbindungen mit Schimmelpilzen keine knoblauchartigen Gase, doch hat schon S e l m i behauptet, daß unter ähnlichen Bedingungen auch Antimonwasserstoff entstehe. Nach R ö s i n g (S. 653) haben Selen, Arsen und Antimon nicht wie der Schwefel die Eigenschaft, mit Eiweiß zusammengebracht die Wasserstoffverbindung zu bilden. K l e t t ²⁾ sah das phosphorige Natrium ohne Einwirkung auf Bakterien und anscheinend selbst unbeeinflusst von ihnen. Auch bei der Fäulnis entsteht aus den Eiweißstoffen oder Phosphaten kein Phosphorwasserstoff (S. 560).

Außer durch den Geruch läßt sich die Anwesenheit von arsenhaltigen Gasen nach G o s i o dadurch nachweisen, daß man sie durch eine 50—60° warme, mit Schwefelsäure versetzte Lösung von Kaliumpermanganat durchleitet und das Filtrat im M a r s h schen Apparat prüft.

Die Fähigkeit der Schimmelpilze, aus Arsenverbindungen riechende Gase zu bilden, hat man nach dem Vorschlage von G o s i o benutzt, um darauf eine b i o l o g i s c h e M e t h o d e d e s A r s e n n a c h w e i s e s zu gründen³⁾. Das zu prüfende Material wird, wenn es eine feste Substanz ist, fein gepulvert oder zerschnitten in einen Kolben von mindestens 100 ccm Inhalt gebracht, dazu einige Tage altes Graubrot in Krümelform und etwas Wasser gesetzt, der Kolben mit Watte verschlossen und 10—30 Minuten im Drucktopf auf 120° erhitzt. Wenn man nach dem Abkühlen mit *Penicillium brevicaulis* reichlich impft und den Kolben mit Gummikappe verschlossen einige Tage bei Zimmertemperatur oder besser bei 37° hält, gelingt es, beim Öffnen der Kulturgefäße den charakteristischen Geruch wahrzunehmen.

Für den Nachweis des Arsens in B i e r ist die biologische Methode nach M o r g a n ⁴⁾ nicht geeignet.

Wenn es auch durch die neuesten Untersuchungen B e r t r a n d s bekannt geworden ist, daß Arsen ein normaler Bestandteil vieler organischer

1) Nach H a u s m a n n (Hofmeisters Beitr. 5. 397, 1904) sind auch grüne Meeresalgen, die mit Aktinien zusammen leben, imstande, Arsenverbindungen zu zerlegen. Bekannt ist durch B i n z, H e f f t e r u. a. die Fähigkeit tierischer Gewebe, Arsenverbindungen zu reduzieren. Darauf beruht wahrscheinlich die Wirkung des Atoxyls usw. (S. 189) auf Trypanosomen und Spirochäten. Die Reduktion schreitet hier nicht bis zum Arsenwasserstoff vor und ist auch wohl nicht enzymatischer Natur (H e f f t e r S. 654), sondern das Werk bestimmter Verbindungen, wie z. B. der Thioglykolsäure (vgl. F r i e d b e r g e r, Verh. Naturf. Gesellsch. Cöln, II, 2. 567, 1909).

2) Zeitschr. f. Hyg. 38. 155, 1900.

3) Vgl. auch M a a ß e n, Arb. Gesundheitsamt 18, 1902.

4) Lancet 1903. II. 22.

Stoffe ist¹⁾, so kann das im allgemeinen den Wert des biologischen Verfahrens nicht herabsetzen, da dadurch doch höchstens Mengen von 0,01 mg entdeckt werden können, während B e r t r a n d z. B. in Eigelb nur einige Tausendstel Milligramm Arsen fand.

§ 216. Eisenbakterien. Ob das Eisen für alle Mikroorganismen ein unentbehrliches Nahrungsmittel ist, ist zweifelhaft (S. 95), nützlich sind jedenfalls kleine Mengen davon manchen Bakterien und Pilzen. Mittelbar wirken die Mikroorganismen besonders der Fäulnis dadurch auf Eisenverbindungen ein, daß ihre Produkte die Oxyde zu Oxydulverbindungen reduzieren oder wenigstens reduzieren helfen (und wenn Schwefelwasserstoff von ihnen gebildet wird, sie in Schwefeleisen verwandeln S. 655). Nähere Untersuchungen darüber fehlen freilich, doch spricht das Vorkommen von Oxydulverbindungen in tieferen Bodenschichten und im Grundwasser für diesen Prozeß. Umgekehrt gibt es aber, wie man schon seit K ü h n und F. C o h n²⁾ weiß, unter den sogenannten höheren algenartigen Spaltpilzen (Algenbakterien § 359) einige, welche zu der Umwandlung des Eisenoxyduls in Oxyd in Beziehung stehen. Man findet die *Crenothrix polyspora*, *Leptothrix ochracea* usw. in größeren Lagern in eisenhaltigen Wässern, und zwar meist in Sümpfen, aber auch in Grundwasserleitungen, die sie durch ihre Wucherungen geradezu verstopfen können. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß die Spaltpilzfäden in dicken gelben Scheiden liegen, die die Reaktion des Eisenoxydhydrats geben. Die Ansichten über die Bildung dieses Stoffes sind noch geteilt. Nach der einen schon von C o h n angedeuteten, dann besonders von W i n o g r a d s k y³⁾ näher entwickelten Auffassung soll die Eisenabscheidung eine Lebenserscheinung sein. Das kohlen-saure Eisenoxydul würde aus dem Wasser aufgenommen, innerhalb der Zellen ein lösliches Oxydsalz gebildet und in der Scheide daraus das Eisenoxydhydrat frei. Bei der großen Ausdehnung des Prozesses könnte diese Oxydation als wichtigste Kraftquelle für die Eisenbakterien gelten, ebenso wie für die Schwefelbakterien die Oxydation des Schwefelwasserstoffs. Schon Z o p f⁴⁾ hielt dagegen die Eisenablagerung für einen Vorgang, der mit dem Leben der Zelle nichts zu tun habe, weil auch leere farblose Scheiden sich in Eisenwässern färbten. M o l i s c h⁵⁾ hat noch eingehender die

1) Annal. Pasteur 1903.

2) Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 1. 1, 1870.

3) Bot. Zeitg. 1888. 261.

4) Zur Morphol. d. Spaltpflanzen Leipzig 1882 und Spaltpilze 3. Aufl. 1884.

5) Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.

Ansicht Winogradskys zu widerlegen gesucht. Er stellte fest, daß die *Leptothrix ochracea* auch ohne eine Spur von Eisen zu züchten ist, also die Eisenablagerung für sie eine ähnlich geringe Bedeutung hat, wie die Kieselsäureablagerungen in den Gräsern. Das Eisensalz sei überhaupt niemals in den Zellen selbst mikrochemisch nachzuweisen, der Oxydationsprozeß könne also für deren Leben keine Bedeutung haben, wenn sie überhaupt erst innerhalb der Scheiden und nicht schon vorher in der umgebenden Flüssigkeit erfolge. Zu ähnlichen Schlüssen kamen Schorler¹⁾ und Ellis²⁾ bei ihren Untersuchungen über Eisenbakterien.

Wenn wir nach diesen und auch nach eigenen Beobachtungen die ausschlaggebende Wichtigkeit des Eisens für das Leben der Eisenbakterien verneinen müssen, so haben wir deswegen noch kein Recht, jede Beziehung der Eisenoxydation und -ablagerung zum Lebensprozeß dieser Mikroorganismen abzulehnen. Sie könnten sehr wohl den Vorgang, der unter dem einfachen chemischen Einfluß des atmosphärischen Sauerstoffs nur langsam verläuft, beschleunigen. Dafür sprechen auch die Erfahrungen, die neuerdings Adler³⁾ über die Haltbarkeit eisenhaltiger Mineralwässer gemacht hat. Wird solches Wasser ohne weitere Vorsichtsmaßregeln in Flaschen aufbewahrt, so nimmt der Gehalt an gelöstem Eisen allmählich ab, und es scheidet sich als Oxydhydrat ab. Zusätze antiseptischer Stoffe oder vorherige Sterilisation des Wassers bei 60° und Aufbewahren bei niedriger Temperatur heben diese Zersetzung auf. Es sind außer den längst bekannten fädigen Eisenbakterien auch Bazillen, ferner Strahlenpilze, echte Pilze und ein gestieltes Geißelinfusorium, *Anthophysa vegetans*, an dieser Eiesenspeicherung beteiligt. Die größte Verbreitung hat aber nach Adler in natürlichen Eisenwässern die schon Ehrenberg bekannte *Gallionella ferruginea*, ein schraubenartig gewundener Faden, der auch als *Spirulina* oder *Spirochaete* bezeichnet worden ist⁴⁾. Nach Adler besitzt sie keine Scheide, sondern schlägt das Eisenoxydhydrat teils auf seinem Körper, teils frei nieder. Allen diesen Mikroorganismen wird man wohl einen Einfluß auf die Bildung des sogenannten Raseneisens nicht absprechen dürfen, wenn sie auch bei unmittelbarer

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 681, 1904.

2) eb. 19. 502, 1907.

3) Deutsch. med. Woch. 1901. 26 und 52; Zentr. Bakt. 2. Abt. 11. 6—9, 1903.

4) Migula, Ber. bot. Gesellsch. 1897. 321 und System der Bakterien 1. 350, 1897.

Untersuchung dieses Minerals gewöhnlich nicht nachzuweisen sind (M o l i s c h).

Wie der Prozeß der Eisenabscheidung verläuft, ist keineswegs klar. Der Kohlensäureverlust allein ist es jedenfalls nicht, der sie bewirkt¹⁾. Auch bei vollständigem Fehlen von Mikroorganismen findet sie statt, aber sehr viel langsamer; die letzteren wirken wohl als Sauerstoffübertrager, vielleicht durch eine O x y d a s e. Es läßt sich keine Grenze für den Eisengehalt des Wassers angeben, der das Wachstum der Eisenbakterien gestattet. Schon sehr geringe Mengen genügen, üppige Wucherungen finden sich freilich nur bei reichlichem Eisengehalt. Auch das Vorhandensein organischer Stoffe ist von Bedeutung.

Schon M o l i s c h fand, daß auch M a n g a n s a l z e durch die Eisenbakterien derselben Veränderung unterliegen, wie Eisensalze. Die Abscheidung ist, wie A d l e r für die Stiele der Antophysa und S c h o r l e r für die Crenothrix bestätigte, eine noch massenhaftere. Nach B e i j e r i n c k und K r a f t ²⁾ wäre sogar der Mangangehalt des Wassers notwendig für eine Entwicklung der Crenothrix (vgl. S. 95).

Die Reinzüchtung der Eisenbakterien, und zwar der Cladothrix dichotoma, ist bisher nur B ü r g e r ³⁾ in Fleischextraktgelatine und einmal Ellis in einer Wasserkultur für eine neue Art, das Spirophyllum ferrugineum, gelungen. Gewöhnlich wachsen sie nur in mehr oder weniger gemischten Kulturen in Wasser mit wenig organischen Substanzen, nach G a s p e r i n i ⁴⁾ am besten in fließendem. Ein gutes Verfahren ist von W i n o g r a d s k y angegeben worden. In 50 cm hohe Glaszylinder bringt man eine Handvoll Heu, das mazeriert und in viel Wasser ausgekocht ist, etwas frisch gefälltes Eisenoxydhydrat und füllt dieses mit Brunnenwasser auf. Hierin entwickelt sich fast regelmäßig Leptothrix ochracea, häufig Cladothrix dichotoma, selten Crenothrix. Die Existenz dieser letzteren, wegen ihrer morphologischen Verhältnisse interessanten Form, wird von G a s p e r i n i bestritten, ist aber nach A d l e r und S c h o r l e r als gesichert zu betrachten. Allerdings war sie nach dem ersten Forscher in der Prager Wasserleitung fast niemals deutlich mit Eisenoxydhydrat inkrustiert, sondern blaß und ergab nur eine schwache Eisenreaktion. Zum Wachstum war sie nicht zu bringen, auch nicht mittelst des sonst von A d l e r sehr empfohlenen Eisenammonzitrats, das in Leitungswasser zu 0,05% gelöst, in Hyazinthengläser gefüllt und mit einer Glasplatte bedeckt Leptothrix, Cladothrix und Antophysa mit Ausschluß fast aller anderen Organismen zur Entwicklung kommen läßt. Gallionella wächst bloß in den natürlichen Eisenwässern.

Bei Ellis siehe näheres über die Fortpflanzung durch Sproßzellen (Konidien) und über die Klassifikation der Eisenbakterien.

1) B i n z , Deutsch. med. Woch. 1901, 14.

2) Zeitschr. f. Untersuchg. v. Nahrungsmitteln 7. 215, 1904.

3) Ber. bot. Gesellsch. 1894. 147.

4) Annali d'igine sperim. 1899. 1.

Auch zum mikroskopischen Nachweis des Eisenoxydhydrats oder Eisenoxyduls dient die Blaufärbung, die bei Zusatz von Salzsäure und Ferro- oder Ferrizyankalium eintritt. Die Manganablagerungen sind schwarzbraun. Sie geben mit einer Perle aus salpetersaurem Kali oder Soda in der nicht leuchtenden Flamme eines Bunsenbrenners eine prachtvolle blaugrüne Färbung.

§ 217. Veränderungen der Chlor-, Brom- und Jodmetalle. Nach Müntz¹⁾ Versuchen erklärt sich die Anwesenheit von Bromaten und Jodaten in Chili-(Peru-)Salpeter aus der oxydierenden Wirkung der Nitrifikationsbakterien (§ 196) auf die Brom- und Jodmetalle. Umgekehrt soll sich im Boden bei Abwesenheit von Sauerstoff eine Reduktion der Chlorate, Bromate und Jodate vollziehen. Andere Mitteilungen darüber liegen anscheinend nicht vor. Aber Raciborski²⁾ hat kürzlich einen Pilz (*Aspergillus niger*?) gezüchtet, der imstande sei, Jod aus Jodkalium (1% in Stärkeagar) freizumachen. Die dabei zutage tretende Bläuung in der Umgebung verschwand nach einiger Zeit wieder, was Verfasser aus einer späteren Reduktion des Jods erklärt. Die Jodkalium spaltende „Oxydase“ gibt keine anderen Oxydasereaktionen (§ 159). Über den Einfluß von Chloraten auf die Denitrifikation vgl. § 197 u. 198.

1) Annal. chim. phys. 6. sér. 11. 118, 1887.

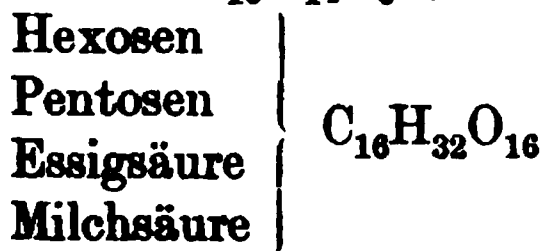
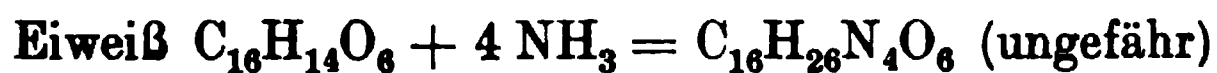
2) Kochs Jahresber. 1905. 5. 2.

Kapitel XIII.

Die Wege des Sauerstoffs und die Beziehungen des Stoff- und Kraftwechsels.

§ 218. **Einleitung.** Das ungleiche Sauerstoffbedürfnis der Mikroorganismen haben wir schon in § 31 und die Beteiligung des Sauerstoffs an den einzelnen Stoffwechselvorgängen in Kap. V und den folgenden Kapiteln besprochen. Hier wird es unsere Aufgabe sein, das Sauerstoffbedürfnis wenn möglich der Größe nach zu bestimmen, im Zusammenhange die Wege, die der Sauerstoff im Stoffwechsel der Kleinwesen durchläuft, und im Anschluß daran den Kraftwechsel derselben in seiner Beziehung zum Stoffwechsel zu betrachten.

Grundlegende Unterschiede ergeben sich zunächst daraus, daß die einen Mikroben, die Aërobier, ihr Sauerstoffbedürfnis aus der Luft decken, die anderen, die Anaërobier, ohne freien oder gebundenen Sauerstoff bestehen, und schließlich auch solche vorkommen, die den Sauerstoff besonders sauerstoffreichen Verbindungen wie Salpeter- und Schwefelsäure entnehmen, nicht der Luft. Hierzu muß freilich bemerkt werden, daß alle Mikroorganismen sich wahrscheinlich in der Beziehung gleichen, daß sie als Quelle für den Sauerstoff, den sie unmittelbar zum Aufbau ihres Körpers nötig haben, sauerstoffhaltige Verbindungen organischer oder unorganischer Natur, wie sie ihnen in der Nahrung fast regelmäßig geboten werden, benutzen können. Ausreichend versorgt sind sie im allgemeinen damit: die folgende kleine Zusammenstellung der auf gleichen Kohlenstoffgehalt gebrachten empirischen Formeln zeigt, daß der Gehalt der unmittelbar assimilationsfähigen Nährstoffe an Sauerstoff im Verhältnis zum Wasserstoff meist größer ist als der des Protoplasmas (Eiweißes).



Weinsäure $C_{16}H_{24}O_{24}$

Glykokoll $C_{16}H_{16}O_{16} + 8 NH_3 = C_{16}H_{40}N_8O_{16}$

Alanin $C_{16}H_{20}O_{10} + 5 NH_3 = C_{16}H_{35}O_{10}N_5$ (ungefähr)

Asparagin $C_{16}H_8O_{12} + 8 NH_3 = C_{16}H_{32}N_8O_{12}$

Glyzerin $C_{16}H_{42}O_{16}$ (ungefähr)

Buttersäure $C_{16}H_{32}O_8$

Leuzin $C_{16}H_{25}O_5 + 3 NH_3 = C_{16}H_{25}N_3O_5$ (ungefähr)

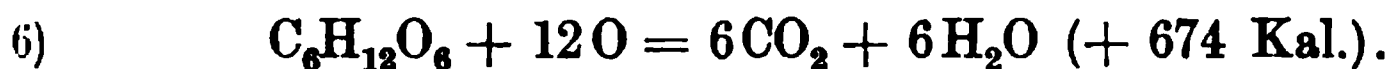
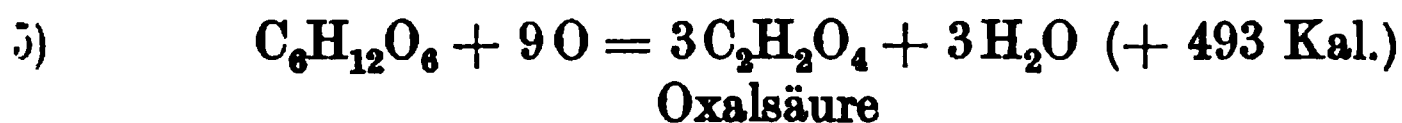
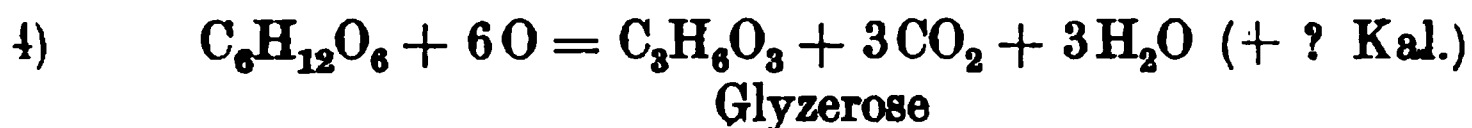
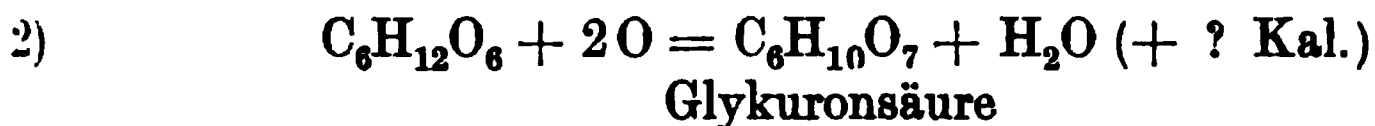
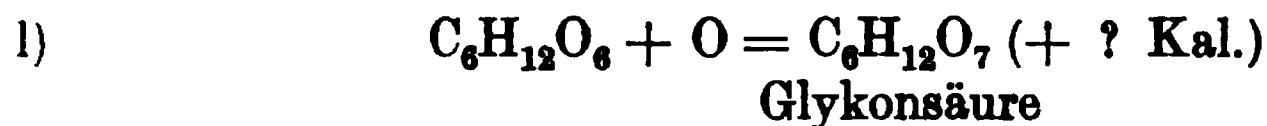
Alkohol $C_{16}H_{48}O_8$

Palmitinsäure $C_{16}H_{32}O_2$.

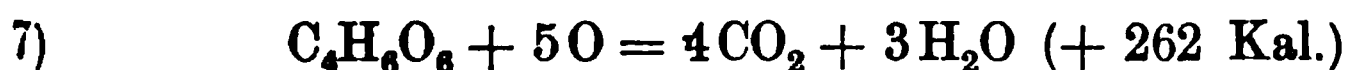
Im allgemeinen ist also, namentlich wenn wir bedenken, daß nicht immer Ammoniak oder dem gleichwertige Stoffe, sondern oft Salpetersäure als Stickstoffquelle geboten ist, die Synthese des Protoplasmas kein Oxydations- sondern ein Reduktionsvorgang (vgl. § 231). Anders wird die Sache, wenn die Bestandteile der Fette (Glyzerin, Butter- und höhere Fettsäuren) der Alkohol und die höheren Aminosäuren (Leuzin) als Nahrung dienen. Sie müßten erst oxydiert werden, wenn sie allein zum Aufbau des Protoplasmas dienen sollten. Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß solche Nährstoffe nur von Aërobiern verwertet werden können. In der Tat bestätigt das die Erfahrung: Fettzehrer sind vor allem die luftliebenden Schimmelpilze usw. (§ 149). Am meisten Glyzerin verbrauchen die Tuberkelbazillen (S. 115). Wenn die Mehrzahl aller Mikroorganismen auch bei jeder anderen Nahrung ein gewisses Luftbedürfnis hat, so liegt das allein daran, daß sie des Sauerstoffs auch zum Betriebe benötigen (§ 35): mit anderen Worten, daß die Sauerstoffatmung im wesentlichen Kraftzwecken dient.

§ 219. Atmung der Aërobier. Atmungsquotient. Dadurch sind im allgemeinen die Wege vorgeschrieben, die der freie Sauerstoff im Stoffwechsel der Mikroorganismen geht: er oxydiert die ihm gebotenen Nährstoffe in der Weise, wie wir es in den vorhergehenden Kapiteln beschrieben haben. Je nachdem die „Verbrennung“ eine vollständige ist oder nicht, sind ihre Produkte verschieden: in ersterem Falle entstehen — mit einigen Ausnahmen, auf die wir unten zurückkommen werden — Kohlensäure und Wasser, oder, wenn wir es mit stickstoff- oder schwefelhaltigen Stoffen zu tun haben, daneben auch noch Ammoniak (seltener Salpetersäure) und Schwefelsäure. Aus der unvollständigen Verbrennung gehen gewöhnlich Stoffe hervor, die höheren Sauerstoffgehalt haben, wie die Ausgangsstoffe. Diese Verhältnisse werden am besten beleuchtet durch Beispiele. Wir wählen dazu die Oxydationen des Zuckers, weil sie zahlreiche Abstufungen zeigen (vgl. § 119 ff.). Je nach der Menge des verbrauchten Sauerstoffs entstehen nämlich

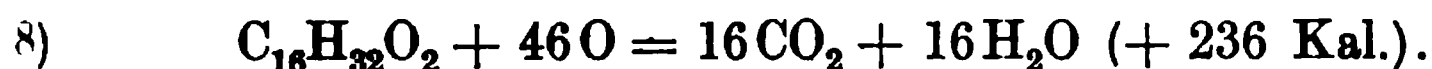
aus dem Zucker Glykonsäure, Glykuronsäure, Zitronensäure, Glyzerose, Oxalsäure, Kohlensäure und Wasser:



Alle diese Prozesse — mit Ausnahme von Nr. 4 — kommen für sich vor, es wird daher möglich, aus der Menge des verbrauchten Zuckers und Sauerstoffs auf die Beschaffenheit der Verbrennungsprodukte zu schließen. Nicht dagegen ist das möglich, wenn man nur die Menge des verbrauchten Sauerstoffs und der gebildeten Kohlensäure oder gar nur das Verhältnis beider Gase, den sogenannten Atmungsquotienten $\text{CO}_2 : \text{O}_2$ kennt. Denn wie man sieht, ist dieser Quotient gleich Null bei den meisten der obigen Oxydationen, trotzdem die dabei verbrauchte Sauerstoffmenge um das Neunfache schwankt, und die Produkte der Oxydation völlig verschieden sind. Treten bei der Zuckernahrung Quotienten auf, die niedriger sind als 1, so wird man zunächst nur annehmen können, daß die Verbrennung zum Teil eine unvollständige ist. Abgesehen von der Beschaffenheit der Oxydationsprodukte hängt der Atmungsquotient natürlich auch ab von der Zusammensetzung der verbrauchten Nahrung. Bei der vollständigen Oxydation des Zuckers und aller ähnlich den Kohlehydraten zusammengesetzten Körper (Formaldehyd, Essigsäure, Milchsäure) ist das Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{O}_2$ zwar gleich 1, bei der der Weinsäure aber $4 : 2,5 = 1,6$; denn



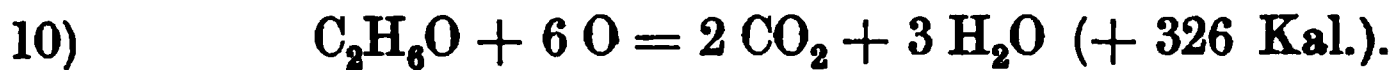
und bei der Palmitinsäure $16 : 23 = 0,7$



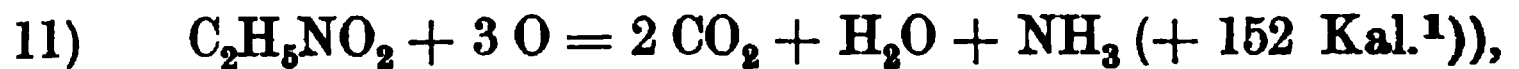
Wird Alkohol zu Essigsäure verbrannt (§ 135), haben wir $\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 0$, weil



wird die Oxydation aber zu Ende geführt (§ 134), so ist $\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 0,67$, weil



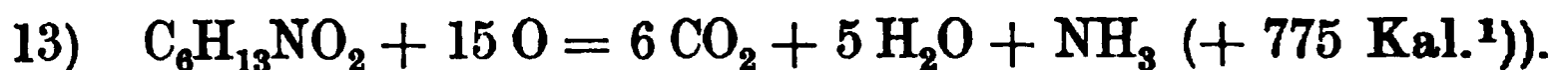
Für stickstoffhaltige Stoffe ergeben sich ebenfalls Quotienten, die bald größer, bald kleiner sind als 1, so ist bei der Verbrennung des Glykolls $\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 1,33$; denn



bei der Verbrennung des Asparagins $\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 0,75$; denn



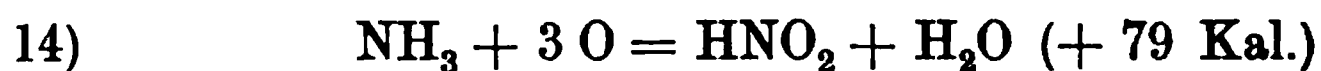
bei der Verbrennung des Leuzins $\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 0,8$; denn



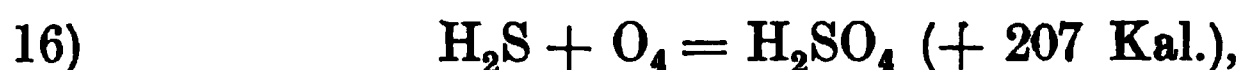
Da Eiweiß eine in der Mitte stehende Zusammensetzung hat, so ist der Atmungsquotient bei seiner vollständigen Oxydation annähernd gleich 1, steht aber bedeutend unter 1, wenn die Oxydation unvollständig ist und kann sogar 0 erreichen, wenn die Verbrennung bei der Oxalsäure stillsteht (§ 172). Doch wird das kaum jemals in ganzem Umfange geschehen.

Bei allen diesen Bestimmungen des Atmungsquotienten wäre natürlich die bei der Verbrennung entstehende, in den Nährböden gebunden oder gelöst bleibende Kohlensäure (s. u. § 221) zu berücksichtigen.

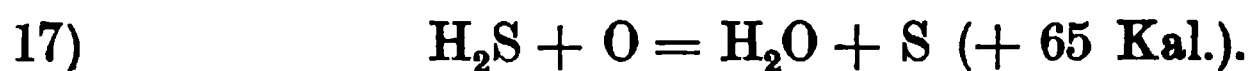
In manchen Fällen wird der von den Mikroorganismen aufgenommene freie Sauerstoff nicht zur Oxydation von Kohlenstoff-, sondern von Stickstoff- und Schwefelverbindungen verwendet, erscheint daher nicht als Kohlensäure, sondern als Salpeter- und Schwefelsäure wieder. Der Atmungsquotient ist dann also ebenfalls gleich 0. So oxydieren die Salpeterbakterien das Ammoniak zu salpetriger Säure und die salpetrige Säure zu Salpetersäure (§ 196) nach folgenden Gleichungen:



Die Schwefelbakterien verbrennen den Schwefelwasserstoff in ähnlicher Weise zu Schwefelsäure nach der Formel (§ 208—210):



als Zwischenerzeugnis entsteht dabei vielfach reiner Schwefel:



1) Diese Verbrennungswärmen unterscheiden sich von den gewöhnlichen dadurch, daß von ihnen die Verbrennungswärme des Ammoniaks in Abzug gebracht ist.

Manchmal schreitet die Oxydation nicht bis zur Schwefelsäure, sondern nur bis zur Tetrathionsäure und anderen sauerstoffärmeren Verbindungen fort, es wird also weniger Sauerstoff verbraucht.

§ 220. Ergebnisse von Atmungsversuchen. Daß alle hier genannten Oxydationsprozesse durch Mikroorganismen verursacht werden, ist sicher, trotzdem kommen wir in Verlegenheit, wenn wir irgendeinen Prozeß angeben sollen, der so genau studiert wäre, daß man auf der einen Seite die Menge des verbrauchten Sauerstoffs, auf der anderen Seite die der sämtlichen Oxydationsprodukte nach Maß und Gewicht festgestellt hätte. Im allgemeinen hat man sich nachzuweisen begnügt, daß ein bestimmter Mikroorganismus zu seinem Leben den freien Sauerstoff nötig hat — es ist das nicht schwer, da sich jede Beschränkung der Sauerstoffzufuhr, z. B. die Kultur in höheren Nährbödenschichten, durch eine sichtbare Verzögerung, und umgekehrt jede Erleichterung des Sauerstoffzutritts, z. B. die Vergrößerung der Kulturoberfläche, durch eine Beschleunigung des Wachstums bemerkbar macht. Daß unter den Oxydationsprodukten die Kohlensäure und das Wasser eine erste Rolle spielen, nahm man ohne weiteres an auf Grund der Erfahrungen, die man bei höheren Pflanzen und Tieren gemacht hatte. Durch genaue Analysen bestimmte man gewöhnlich nur die übrigen Stoffe, die aus der Verbrennung hervorgehen, z. B. die Zitronen-, Oxal-, Essig-, Salpeter- und Schwefelsäure, und, soweit das möglich war, den Verbrauch der Nährstoffe, z. B. des Zuckers und Alkohols, die als Ausgangsmaterial gedient hatten. Selten sind die Fälle, in denen man außerdem noch oder statt dessen allein die Kohlensäureentwicklung der Aërobier feststellte. Wir haben sie schon bei den Zersetzungen der Eiweißkörper (Marchal S. 527, Riemer S. 521), der Kohlenhydrate usw. bzw. bei der Stickstoffassimilation (Stoklasa, Krainski S. 632) erwähnt. Teilweise sind diese Bestimmungen unvollkommen, indem bloß die frei entweichende Kohlensäure, nicht die im Nährboden (z. B. durch Ammoniak usw.) gebundene gemessen wurde. Dahin gehört auch die Scheuerlensche Arbeit¹⁾, in welcher nur der Nachweis geführt wurde, daß alle — daraufhin geprüften — Bakterien Kohlensäure entwickeln. Doch liegen auch einige vollständige Gasanalysen schon aus älterer Zeit vor. So stellte schon Pasteur²⁾ fest, daß luftliebende Mikroorganismen, wie Essigbakterien, Schimmelpilze und Hefen in geschlossenen Gefäßen den Sauerstoff vollständig verbrauchen und Kohlensäure dafür erzeugen. In einer dieser Ana-

1) Festschrift für Leyden 2. 203, 1907.

2) Vgl. Etudes sur la bière 1876, S. 89, 243, 249, 251 usw.

lysen fand er, daß auf 35 mg Hefetrockensubstanz binnen 15 Stunden 14—15 ccm Sauerstoff verschwunden und 19—20 ccm Kohlensäure entstanden waren. Der hohe Atmungsquotient $\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 1,3$ trotz Ernährung mit Zucker (vgl. S. 669) weist darauf hin, daß ein Teil der Kohlensäure durch Gärung, nicht durch Oxydation aus dem Zucker der Nährlösung hervorgegangen war. Sehen wir davon ab, so würden für die aërobe Entwicklung von einem Milligramm Hefe in Zuckerlösung 0,4 ccm oder 0,5—0,6 mg Sauerstoff verbraucht werden. Wahrscheinlich ist diese Zahl aber zu klein. *D u c l a u x*¹⁾ hat für eine andere Hefe, die sich durch ihre geringe Gärkraft mehr den Schimmelpilzen nähert, aus dem Gewicht der produzierten Kohlensäure auf einen Sauerstoffverbrauch von etwas mehr als dem Eigengewicht der Hefe geschlossen.

Auf den Gaswechsel der Hefe bei beschränktem Sauerstoffzutritt, d. h. bei Ermöglichung bzw. Beförderung der Gärung, kommen wir später zurück (§ 223 u. 233).

Über die Atmung der Schimmelpilze liegen einige Angaben von *D i a k o n o w*, *G e r b e r*, *P u r i e w i t s c h*, *M a z é* und *K o s t y t s c h e w* vor, doch beschränken sie sich im wesentlichen auf die Bestimmung des Atmungsquotienten. Nur *M a z é*²⁾ gibt einige Zahlen, die den gesamten Gaswechsel der *Eurotiosis Gayoni* bei Ernährung mit Invertzucker und Alkohol festlegen. Es betrug nämlich

	bei Ernährung	
	mit Zucker	mit Alkohol
das Pilzgewicht	211 mg	96,2 mg
in der Zeit von	4 Tagen	6,4 Tagen
der Nährstoffverbrauch	630 mg	?
die Kohlensäureentwicklung	495 „	184,7 mg
der Sauerstoffverbrauch	305 „	164,4 „
der gefundene Atmungsquotient	1,17 „	0,51 „
der berechnete Atmungsquotient ³⁾	1,00 „	0,66 „

Gegen diese Resultate ist allerdings der Einwand zu erheben, daß sie mit Kulturen gewonnen worden sind, die im geschlossenen Raum gehalten wurden. Es stellte sich zum Schluß Sauerstoffmangel ein, der bei der Ernährung mit Zucker wohl teilweise zu intramolekularer Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure (§ 223) und so zur Erhöhung des Atmungsquotienten, bei der Ernährung mit Alkohol

1) Annal. Pasteur 1889.

2) Ebenda 1902. 358.

3) Vgl. über die berechneten Atmungsquotienten S. 669.

vielleicht zu unvollkommener Verbrennung des Alkohols und daher zur Erniedrigung des Quotienten führte. Doch sind die daraus entstehenden Fehler nicht groß. Man sieht jedenfalls, daß der Pilz bei der Ernährung mit Zucker fast das Anderthalbfache, bei der Ernährung mit Alkohol mehr als das Anderthalbfache seines Eigengewichts an Sauerstoff verbraucht hat. Ähnliche Gasanalysen stellten Mazé und Perrin¹⁾ bei der Zitronensäuregärung durch *Citromyces* an. Sie bestätigen die Voraussetzung, daß hierbei viel mehr Sauerstoff aufgenommen, als Kohlensäure abgeschieden wird (§ 121). Die Arbeiten der übrigen Forscher geben kaum ein vollständiges Bild des Gaswechsels der Pilze. Immerhin kann man aus den Zahlen, die Diakonow²⁾ mitteilt, entnehmen, daß *Penicillium glaucum* bei 15—25° in guten Nährlösungen auf jedes Gramm seiner Trockensubstanz stündlich 30—50 mg CO₂, also täglich etwa 720 bis 1200 mg CO₂ bildet und wahrscheinlich dabei 540—900 mg Sauerstoff aufnimmt. Da es aber jedenfalls mehr als 24 Stunden dauerte bis der Pilz zu diesen Atmungsgrößen herangewachsen war, muß die Gesamtmenge des beim Wachstum verbrauchten Sauerstoffs nicht unerheblich größer gewesen sein. Man wird also auch wohl für die strengen Aërobier die Menge des Sauerstoffbedarfes mindestens deren Eigengewicht gleichsetzen müssen. Was den Atmungsquotienten anlangt, so stellt Diakonow³⁾ das bei der Atmung der Pilze gefundene Verhältnis von CO₂:O₂ mit demjenigen zusammen, das sich bei der vollständigen (chemischen) Verbrennung ergeben würde:

Ernährung	bei der Atmung von Schimmelpilzen	bei chemischer Verbrennung
mit Glykose C ₆ H ₁₂ O ₆	1,30	1,00
„ Chinasäure C ₇ H ₁₂ O ₆	1,22	1,00
„ Weinsäure C ₄ H ₆ O ₆	2,90	1,60
„ Äthylamin NH ₂ C ₂ H ₅	0,67	0,61

Nach Gerber⁴⁾ ergeben sich für die Atmung des *Aspergillus niger* folgende Zahlen:

1) Annal. Pasteur 1904, 553.

2) Ber. bot. Gesellsch. 1886. 3.

3) Ebenda 1887. 115.

4) Compt. rend. ac. sc. 124, 162, 1897.

Ernährung	bei der Atmung	bei chemischer Verbrennung
mit Zitronensäure $C_6H_8O_7$	1,68	1,33
„ Äpfelsäure $C_4H_6O_5$	1,76	1,33
„ Weinsäure $C_4H_6O_6$	2,47	1,60

P u r i e w i t s c h ¹⁾ fand schließlich bei demselben Pilz:

Ernährung	bei der Atmung	bei chemischer Verbrennung
mit Glykose $C_6H_{12}O_6$	0,95	1,00
„ Glyzerin $C_3H_8O_3$	0,75	0,85
„ Mannit $C_6H_{14}O_6$	0,65	0,92
„ Milchsäure $C_3H_6O_3$	0,85	1,00
„ Weinsäure $C_4H_6O_6$	1,62	0,60

Offenbar stimmen diese letzteren Versuchsergebnisse am besten mit denen der Rechnung überein; wahrscheinlich liegt das daran, daß die Versuchsanordnung Puriewitschs einwandfreier war, weil sie eine normale Atmung gewährleistete. Die Abweichungen, die sich hier noch zeigen, deuten sämtlich darauf hin, daß der physiologische Verbrennungsprozeß bei den Pilzen anders verläuft, nicht so vollständig ist, als der chemische. Es werden wohl stets einige Zwischenprodukte, wie z. B. Oxalsäure, gebildet, die den Atmungsquotienten herabdrücken, und zwar nach Puriewitsch besonders, wenn die Konzentrationen der oxydierten Stoffe entweder sehr niedrig oder sehr hoch sind. Die starken Abweichungen nach der anderen Seite, die Diakonow und Gerber erhielten, erklären sich am einfachsten dadurch, daß die Pilze durch die Beschränkung des freien Sauerstoffzutritts zu intramolekularer Atmung, d. h. Gärung, gezwungen wurden (§ 223). Dabei steigt die Kohlensäureabgabe unverhältnismäßig. Eine andere Möglichkeit für die Erhöhung des Quotienten ist bei der Reifung der Pflanzensamen beobachtet worden²⁾, nämlich die Umwandlung von Kohlehydraten zu Fetten. Sie kommt bei der kurzen Dauer der hier besprochenen Versuche aber kaum in Betracht. Auf die Versuche an Pilzen, welche die Atmung bei Sauerstoffzutritt und -abschluß miteinander vergleichen, kommen wir weiter unten zurück (§ 223).

Für B a k t e r i e n liegen nur wenig brauchbare Untersuchungen vor. Sie ergeben durchweg einen weit höheren Sauerstoffverbrauch

1) Jahrb. wiss. Bot. 35. 597.

2) Jahrb. wiss. Bot. 13. 540, 1882.

als bei Pilzen. Bis zum 500fachen ihres Körpergewichts steigt der Sauerstoffverbrauch nach P a s t e u r s Versuchen bei den Essigbakterien (vgl. S. 430). Wieviel Kohlensäure neben der Essigsäure als Verbrennungsprodukt auftritt, wurde nicht festgestellt, jedenfalls wird der Atmungsquotient sehr niedrig sein (S. 669). Ähnliches gilt für die Salpeterbakterien, deren hoher Sauerstoffverbrauch nicht unmittelbar bestimmt, sondern aus der Menge der gebildeten salpetrigen und Salpetersäure geschätzt werden kann (S. 602). Auch die Stickstoff bindenden Azotobakterien müssen, nach der Kohlensäureentwicklung zu urteilen (S. 632), gewaltige Mengen Sauerstoff verbrauchen. Bedeutend größere Mengen von Sauerstoff als Hefen und Pilze verbraucht nach A r n a u d und C h a r r i n ¹⁾ auch der *Pyocyaneus* in Asparaginlösung, nämlich etwa das F ü n f f a c h e s e i n e s E i g e n g e w i c h t e s und verbrennt dabei 72,5% des ursprünglichen Kohlenstoffs, oder 84% des nicht in den Bakterienkörpern festgelegten Kohlenstoffs zu Kohlensäure, den Rest zu Verbindungen, die nicht näher bestimmt wurden. Rechnet man auf Grund dieser Angaben den Atmungsquotienten heraus, so erhält man etwa 1,3 statt 0,75, wie bei vollständiger Verbrennung des Asparagins zu erwarten wäre. Da die Verbrennung aber keine vollständige ist, würde man einen noch kleineren Quotienten zu erwarten haben. Es wird also wohl irgendwo ein Fehler stecken (vgl. S. 526).

Eine Reihe von Gasanalysen verdanken wir ferner H e s s e ²⁾. Durch tägliche Untersuchung der Luft in geschlossenen Kulturgefäßen stellte er zunächst fest, daß, wie zu erwarten, in der ersten Zeit, d. h. solange sie sichtbar wachsen, die Aërobier den ihnen gebotenen Sauerstoff schnell verzehren und dabei Kohlensäure produzieren. Später verlangsamt sich der Prozeß, bleibt aber noch w o c h e n l a n g und selbst m o n a t e l a n g in gewissem Umfange bestehen. Bei langsam wachsenden Mikroorganismen wie den Tuberkelbazillen ist er von vornherein weniger ausgesprochen. Leider hat H e s s e es versäumt, mit dem Gaswechsel das Gewicht der Bakterienernte zu bestimmen. Außerdem hat er die Menge der im Nährboden gebundenen Kohlensäure nicht berücksichtigt, so daß der Atmungsquotient bei ihm stets wohl zu niedrige Werte hat. Auch sonst ist die Methode nicht sehr genau, wie wohl die unregelmäßigen Schwankungen der Gaswechselkurve beweisen³⁾. Einige Versuche, in denen die Menge des verbrauchten Sauerstoffs und der erzeugten Kohlensäure zusammen bestimmt wurden,

1) Compt. rend. ac. sc. 112. 755 und 1157, 1891.

2) Zeitschr. f. Hyg. 15. 17 und 189, 1893; ebenda 25, 480, 1897.

3) Immerhin finden wir ähnliche Schwankungen auch bei den Kohlensäurekurven R i e m e r s (S. 521). Vgl. auch S. 132.

hatten folgende Ergebnisse: Das *Cholera spirillum* verbrauchte binnen 25 Tagen bei zehnmaliger Erneuerung der Luft im Kulturgefäß und üppigem Wachstum auf einer schrägen Schicht von 25 ccm Nähragar 106,5 ccm Sauerstoff und erzeugte 68,1 ccm Kohlensäure ($\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 0,64$); der Pestbazillus binnen 39 Tagen 51,6 ccm Sauerstoff bzw. 39,2 ccm Kohlensäure ($\text{CO}_2 : \text{O}_2 = 0,76$). Nimmt man an, daß die Bakterienernte etwa 50—100 mg im feuchten Zustande oder 10—20 mg im trockenen betragen hätte, was mit anderen Erfahrungen übereinstimmen würde (§ 234), so hätte das Choleraspirillum das 5- bis 10fache, der Pestbazillus das $2\frac{1}{2}$ —5fache seines Gewichts an Sauerstoff verbraucht.

Schittenhelm und Schröter¹⁾ haben mit einer ebenfalls nicht sehr genauen Methode²⁾ die Atmung des *B. coli* in nukleinsaurem Natron mit und ohne Glyzerin, ferner in Asparagin und Milchsäure (Uchinsky-Lösung) bestimmt und fanden einen Atmungsquotienten von 0,71—0,78, wenn das (anaërob vergärbare) Glyzerin fehlte, im anderen Falle wie zu erwarten, einen höheren (1,87).

Der Sauerstoffverbrauch von Bakterien in mit Abfallstoffen verunreinigtem Wasser, maßen Spitta³⁾ und Brezina⁴⁾ durch die „Sauerstoffzehrung“, d. h. durch die Abnahme des im Wasser gelösten Sauerstoffs während des Stehens. Nach unserer Auffassung⁵⁾ ist es zweifelhaft, ob man es hier mit einer eigentlichen Lebens-(Wachstums-)Erscheinung und nicht vielmehr mit einer Art Selbstverbrennung der Bakterien zu tun hat (S. 573 u. § 226).

Ein Bedürfnis für weitere Gasanalysen, die in der angegebenen Weise zu ergänzen wären, liegt entschieden vor.

§ 221. Verfahren zur Gasuntersuchung. Pasteur stellte seine Gasanalysen in der Weise an, daß er die ausgezogene Spitze seiner geschlossenen Kulturgefäße unter Quecksilber abbrach, Proben des austretenden Gases im Eudiometer auffing und durch Absorption mit Kalilauge und Pyrogallussäure Kohlensäure und Sauerstoff bestimmte.

Viel angewandt worden ist später auch von anderen Forschern wegen ihrer Einfachheit die Kultur im abgeschlossenen Luftraum, dessen Atmosphäre man am Schlusse analysiert. Dabei besteht aber die Gefahr, daß der zunächst in genügender Menge zur Verfügung stehende Sauerstoff früher oder später verbraucht wird, und dadurch anaërobe Bedingungen geschaffen werden. Nach Hesse bedient man sich am bequemsten breiter Reagensgläser von 50—100 ccm Inhalt, die mit 25 ccm Agar beschickt sind, zur Kultur. Der eingeschliffene Glaspfropfen ist

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 40 u. Zentr. Bakt. 35, 1904.

2) Vgl. darüber Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41.

3) Arch. f. Hyg. 38. 246.

4) Zeitschrift f. Hyg. 53. 495.

5) Kruse ebenda 57, 69, 1908.

von zwei Glaskapillaren durchbohrt, die zum Einbringen von Watte eine Erweiterung tragen und mit Glashähnen verschlossen sind. Die eine Öffnung kann mit einem Manometer verbunden werden. Die andere Kapillare verbindet man mit einer H e m p e l'schen Gasbürette, die mit Temperatur- und Barometerkorrektur versehen ist, und kann auf diese Weise beliebig oft Proben zur Analyse des Gasinhalts der Kulturen vornehmen. Bei der Berechnung sind die Druckveränderungen im Kulturgefäß zu berücksichtigen. Nach jeder Probenahme ist es mit frischer Luft zu füllen. In der ersten Zeit muß die Entnahme und Neufüllung mindestens täglich bewerkstelligt werden, wenn man die Mikroorganismen genügend mit Sauerstoff versorgen will. Für Anaerobier kann man diese Versuchsanordnung dahin abändern, daß man das Kulturgefäß mit einem nicht angreifbaren Gase (Wasserstoff, Stickstoff) füllt oder es luftleer macht¹⁾. Die Fehlerquelle, die durch Absorption von Kohlensäure in dem Nährboden entsteht, kann man dadurch ausschließen, daß man am Schlusse des Versuchs das gebundene Gas durch Ansäuerung und Erhitzen des Nährbodens austreibt und gesondert bestimmt. Eine andere Fehlerquelle ergibt sich nach H e s s e daraus, daß besonders stark alkalische Nährboden, auch ohne daß sie mit Mikroorganismen besät sind, in der ersten Zeit Sauerstoff absorbieren. Bei den gewöhnlichen neutralen Nährböden ist das nicht der Fall. Kontrollversuche würden jedenfalls vor Irrtümern schützen.

Andere brauchbare Apparate zur Bestimmung der vollständigen Atmung haben G o d l e w s k i und P u r i e w i t s c h, einen sehr schönen, aber auch teuren M a z é und P e r r i n angegeben.

Während man zur gleichzeitigen Bestimmung des verbrauchten Sauerstoffs und der entwickelten Gase die volumetrische Methode benutzen muß, kann man die Kohlensäure allein gewichtsanalytisch bestimmen, indem man kohlensäurefreie Luft von Zeit zu Zeit oder in gleichmäßigem Strom durch das Kulturgefäß und nach Trocknung durch eine Pettenkofer'sche Röhre oder dergleichen hindurchsaugt.

Wie man die Zusammensetzung der bei Wasserstoffgärungen entwickelten Gase in einfachster, aber freilich nur vorläufiger Weise feststellen kann, haben wir S. 347 besprochen.

Die Aufnahme freien Stickstoffs durch Mikroorganismen (§ 201 ff.) wird gewöhnlich dadurch bestimmt, daß man die Stickstoffzunahme in der Kultur ermittelt. Man könnte aber auch die obige H e s s e'sche Versuchsanordnung benutzen. Die Entbindung von Stickstoff durch denitrifizierende Bakterien weist man in derselben Weise nach, wie die anderer Gärungsgase²⁾.

§ 222. Sauerstoffübertragende Enzyme. Oxydasen³⁾. Die einzelnen Oxydationsprozesse haben wir bei den Stoffen, die oxydiert werden, schon besprochen. Sie sind, wie wir gesehen haben, zum großen Teil s p e z i f i s c h, d. h. sie werden durch b e s o n d e r e K r ä f t e

1) Einen ziemlich einfachen Kulturapparat zur Gasanalyse für Anaeroben beschreibt S a l u s (Arch. f. Hyg. 51, 1904).

2) Die Einzelheiten einer genauen Gasanalyse vgl. bei H e m p e l, Gasanalytische Methoden.

3) Über die angeblich sauerstoffübertragenden Körner (Fett) in Bakterien s. S. 48. Über oxydierende Filtrate, vgl. S. 650.

vermittelt, die wir vermutungsweise den Enzymen gleichstellen können. Man darf also nicht im allgemeinen von einer Oxydationskraft der Mikroorganismen sprechen, sondern von dem Vermögen, bestimmte Stoffe zu oxydieren. Das gilt z. B. bei den Ammoniak, salpetrige Säure, Schwefelwasserstoff oxydierenden Bakterien. Andere Mikroben haben einen weiteren Spielraum. So sind die Essigbakterien zwar besonders befähigt, Alkohol in Essigsäure, die Zitronensäurepilze den Zucker in Zitronensäure zu verwandeln. Das schließt aber nicht aus, daß diese selben Mikroorganismen auch unter Umständen ihre Oxydationsprodukte weiter oxydieren, so z. B. die Essigsäure und Zitronensäure vollständig zu Kohlensäure und Wasser zu verbrennen und auch manche anderen Stoffe zu oxydieren vermögen. Es bleibt hier zunächst unbestimmt, ob ein und dasselbe Ferment diese verschiedenen Leistungen vollzieht, oder ob mehrere daran beteiligt sind. Wir möchten letzteres annehmen.

Die Isolierung eines Oxydationsenzym (Alkoholoxydase, Alkoholase, Azetolase) ist anscheinend bei den Essigbakterien gelungen (S. 429), ferner haben wir schon die Oenoxydase, die Laktase, Tyrosinase und ähnlichen Oxydasen oder Peroxydasen (§ 159), schließlich die schwefelsäurebildende Oxydase im Hefepreßsaft (S. 642) kennen gelernt. An die Katalase, die allerdings eine besondere Stellung zwischen oxydierenden und reduzierenden Enzymen einnimmt, sei hier ebenfalls erinnert (§ 160). Offenbar können aber alle diese Enzyme, mit Ausnahme der Alkoholoxydase, nur eine geringe Bedeutung im Stoffwechsel beanspruchen, weil die meist aromatischen Körper, die sie oxydieren, kaum zu den Nahrungsmitteln gehören, und die Oxydation wegen ihrer geringen Ausdehnung keine Kraftquelle darstellt. Viel wichtiger wäre es, wenn wir wüßten, wie die Oxydation z. B. des Zuckers, der Fettsäuren und des Fettes vermittelt wird, wenn wir also eigentliche Atmungsenzyme künnten. In dieser Beziehung lagen bis vor kurzem nur einige unsichere Beobachtungen, die an tierischen Säften gemacht sind, vor¹⁾. Doch sind neuerdings einige Fortschritte erzielt worden. So erschloß zuerst T e l e s n i n ²⁾ aus der Untersuchung des Gaswechsels von durch Azeton abgetöteter H e f e (Zymin) in Wasser und verschiedenen teils vergärbaren, teils nicht vergärbaren Nährböden (mit Gelatine) die Anwesenheit einer Oxydase, die er allerdings noch mit den B e r t r a n d s c h e n Oxydasen (§ 159) identifizierte. Fast immer war die

1) Vgl. O p p e n h e i m e r, Fermente, 1903 und C o h n h e i m, Zeitschr. physiol. Chem. 47, 1906.

2) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12, 205, 1904.

Kohlensäureabgabe weit größer als die Sauerstoffaufnahme, der Atmungsquotient (wegen der Gärung bzw. Selbstvergärung der Hefe, vgl. § 223) also viel höher als 1 und die Sauerstoffaufnahme an sich gering. Ähnliche Versuche stellte ziemlich gleichzeitig W a r s c h a w s k y ¹⁾ an, aber mit Azetonpräparaten, die aus Kulturen gärfähiger Hefen auf nicht vergärbaren Nährböden (Glyzerin, Mannit) oder einer nicht gärfähigen Kahlmhefe (*Sacch. membranaefaciens*) gewonnen waren. Stets wurde die Prüfung in verschlossenen Gläschen von 20 ccm Inhalt mit 2 ccm starker Zuckerlösung, etwas Gelatine und 0,2—0,3 g der Trockenhefe vorgenommen. Wenn gleich Gärung eintrat, war das Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{O}_2$ sehr hoch (bis zu 30) und die Sauerstoffaufnahme gering. In den zunächst nicht gärenden Proben kehrte sich aber das Atmungsverhältnis um, und die Sauerstoffaufnahme stieg. So ergab z. B. die Gasanalyse in einem Versuch mit *S. membranaefaciens* nach 117 Stunden: 3,68% CO_2 , 14,1% O_2 und 82,2% N_2 . Ein anderer Versuch mit Zymin aus einer Mannitkultur der Bierhefe verlief bis zum 5. Tage ähnlich, es fanden sich nämlich nach 95 Stunden 5,9% CO_2 , 13,3% O_2 , 80,8% N_2 ; dann begann plötzlich eine reichliche Kohlensäureentwicklung und gleichzeitig auch erheblich kräftigere Sauerstoffaufnahme, so daß nach 168 Stunden die Gase bestanden aus 58,3% CO_2 , 0,12% O_2 , 41,6% N_2 . Der plötzliche Umschwung legt dem Verfasser selbst den Verdacht nahe, daß eine Infektion von außen eingetreten sei. Jedenfalls gewinnen wir aus diesen Versuchen Anhaltspunkte für das Vorhandensein kräftiger, nicht bloß sauerstoffbindender, sondern auch Kohlensäure erzeugender Oxydasen. In einem anderen Versuche fehlte allerdings trotz reichlicher Sauerstoffaufnahme die CO_2 -Bildung fast völlig.

K o s t y t s c h e w ²⁾ stellte sich ebenfalls durch Behandlung mit Azeton und Verreiben aus dem Myzel des *Aspergillus niger* ein trockenes Pulver her, das in der Menge von 0,3—1 g zu 10—30 ccm Zuckerlösung gesetzt, binnen 15—20 Stunden einige ccm Kohlensäure entwickelte und bei reichlichem Luftzutritt Sauerstoff absorbierte. Auch bei Sauerstoffabwesenheit wurde Kohlensäure entwickelt. Doch verlor das Trockenpräparat die Fähigkeit der „anaëroben Atmung“ durch Erhitzen auf 100°, während die aërobe Atmung dadurch zwar etwas geschädigt, aber nicht unterdrückt wurde. Verfasser nimmt daher zwei verschiedene „Atmungsenzyme“ an. Das anaërobe Enzym ist der Zymase nur ähnlich, nicht gleich. Beide Enzyme verlieren schnell ihre Wirksamkeit. M a x i m o w ³⁾ kam zu ähnlichen Ergebnissen,

1) Zentr. Bakt. 405.

2) Ber. bot. Gesellsch. 1904. 207.

3) Ebenda 225.

wenn er denselben Pilz mit Sand fein zerrieb, den Saft durch Papier filtrierte und mit 40 % Glykose oder mit 25 prozentiger Glykoselösung und Toluol vermischte. Auch dieser Forscher schloß auf das Vorhandensein zweier voneinander unabhängiger Enzyme, weil er den Atmungsquotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$, der zunächst 1—4 betrug, im Laufe der Versuche allmählich kleiner wie 1 werden sah: die Oxydase wäre danach widerstandsfähiger, als das Kohlensäure entwickelnde Ferment. Letzteres arbeitet gleich kräftig an der Luft und in Wasserstoff.

Auch mit Azetonpräparaten von *Mucor* arten arbeitete K o s t y t s c h e w¹⁾ und verglich sie mit dem käuflichen Zymin (aus Bierhefe) bei Luftzutritt und -abschluß. Ein Versuch mit 1 g des letzteren und 15 ccm 20 prozentiger Traubenzuckerlösung ergab beispielsweise

I. Luftzutritt (6½ Std.)	14	ccm CO ₂	3,7	ccm O ₂	CO ₂ : O ₂ = 3,8
II. Luftabschluß (6½ Std.)	13,8	„ CO ₂	0	„ O ₂	CO ₂ : O ₂ = ∞
V. Luftzutritt (21½ Std.)	35	„ CO ₂	4	„ O ₂	CO ₂ : O ₂ = 8,8
VI. Luftabschluß (21½ Std.)	15,1	„ CO ₂	0	„ O ₂	CO ₂ : O ₂ = ∞

Erhitzen des Trockenpräparats setzte den Gasaustausch etwa um die Hälfte herab, änderte aber nichts an dem Atmungsquotienten. Ein Azetonpräparat des *Mucor stolonifer* ergab:

I. bei Luftzutritt (17 Std.)	2,7	ccm CO ₂	2,7	ccm O ₂	CO ₂ : O ₂ = 1,0
II. bei Luftabschluß (16 Std.)	1,3	„ CO ₂	0	„ O ₂	CO ₂ : O ₂ = ∞

Erhitzung des Präparats auf 100° bewirkte wie bei *Aspergillus niger* eine Herabsetzung des Atemquotienten bei Luftzutritt auf 0,2—0,7 und das Ausbleiben der Kohlensäureentwicklung bei Luftabschluß. Das aus *Mucor racemosus* hergestellte Azetonpräparat verhielt sich ähnlich dem Zymin, nur war es weniger kräftig.

Eine etwas reichlichere Oxydation haben neuerdings H e r z o g und M e i e r²⁾ mit *Penicillium* myzel, das durch Azeton oder Methylalkohol abgetötet, getrocknet und gepulvert war, erhalten. Sie ließen es auf Lösungen von verdünnter Bierwürze mit und ohne milchsaures Ammon (vgl. S. 447) wirken und erhielten dabei im letzteren Fall, wo eine Gärwirkung wohl ausgeschlossen war, mit 18—23 g Pilzsubstanz für 0,8—3 g Milchsäure eine Zuwachsentwicklung von 0,04 bis 0,07 g Kohlensäure, die in 36 Stunden aufhörte. Anscheinend wird die verschwindende Milchsäure nicht vollständig oxydiert.

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 13. 583, 1904.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 1908.

Die bisher also recht dürftige Ausbeute an oxydierenden Enzymen hat viele Forscher zu dem Schluß geführt, daß die Oxydation im allgemeinen nicht durch isolierbare Enzyme, sondern durch das „lebende Protoplasma“ selbst vermittelt werde. Das ändert aber an der oben betonten Spezifität des Vorgangs nichts und verschiebt die Erklärung eigentlich nur auf spätere Zeiten, die uns über die Natur der lebenden Substanz aufklären sollen. Vorläufig sind wir eher geneigt, auch die Oxydation durch Mikroben auf Enzyme, die aber empfindlicher sind, als andere, zurückzuführen (vgl. auch Selbstverbrennung § 226).

§ 222 a. **Sauerstoffspeicherung.** Manche Bakterien scheinen Stoffe (fettartige Pigmente) zu erzeugen, die imstande sind, Sauerstoff zu speichern (S. 104 u. § 253). Ob gerade diese Stoffe eine größere biologische Bedeutung besitzen, die etwa mit der des Hämoglobins der Tiere auf eine Stufe zu stellen wäre, ist zweifelhaft. Dagegen ist die von P a s t e u r nachgewiesene Sauerstoffspeicherung der Hefe (S. 103) wohl für diese von Nutzen. Ihr Mechanismus ist noch unklar.

§ 223. **Intramolekulare Atmung und Gärung¹⁾.** Nachdem man die Erfahrung gemacht hatte, daß es Mikroorganismen gibt, die ohne freien Sauerstoff leben können, glaubte man ganz allgemein ihnen als Ersatz der äußeren Atmung eine innere (intramolekulare) Atmung zuschreiben zu müssen. Selbst der Entdecker der Anaërobier, P a s t e u r, äußert in seinen ersten Abhandlungen²⁾ die Vorstellung, diese Mikroorganismen entzögen sauerstoffhaltigen Verbindungen den Sauerstoff, den sie der Atmosphäre nicht entnehmen könnten. Es steht das in einem gewissen Widerspruch zu dem Satz, den P a s t e u r selbst ja von vornherein verfochten, daß nämlich die Gärung, also ein Spaltungsprozeß, der Ersatz der Atmung sei. Eine klare Äußerung über diese Verhältnisse vermißt man übrigens bei P a s t e u r ebenso wie bei seinen Nachfolgern³⁾; in seinen späteren Arbeiten⁴⁾ spricht er überhaupt nicht mehr von dieser inneren Oxydation. Eine Stütze erhielt die letztere Lehre durch die Beobachtung P f l ü g e r s u. a., daß die Kohlensäureausatmung und die Lebenserscheinungen auch bei den höheren Organismen fortbestehen, wenn der Sauerstoff vollständig abgeschlossen ist. Man sah darin eine Fortsetzung der Atmungsprozesse, obwohl P f l ü g e r selbst die Kohlensäurebildung als eine „Dissoziation“, eine Spaltung auffaßt. Da auch bei den Anaëro-

1) Vgl. § 61 u. 62.

2) Compt. rend. ac. sc. 52. 1263, 1861.

3) Vgl. z. B. B r e f e l d, Landwirtsch. Jahrb. 1876.

4) Compt. rend. 75. 785, 1872. Etudes sur la bière 1876.

biern gewöhnlich Kohlensäure gebildet wird (vgl. z. B. bei Hesse S. 675), schien auch hier die Lehre von der inneren Atmung eine Bestätigung zu finden. Das regelmäßige Vorkommen von Reduktionsprozessen bei allen Arten von Lebewesen war ein weiterer Beweis für den „Sauerstoffhunger“¹⁾ des Protoplasmas (vgl. S. 477). Die reduzierten Stoffe lieferten eben mittel- oder unmittelbar den zum Leben nötigen Sauerstoff.

Den klarsten, aber auch übertriebensten Ausdruck hat die Lehre bei Wörmann²⁾ gefunden. Bei ihm ist, wie bei Pflüger, die Zersetzung des Protoplasmas, die Abspaltung oder Dissoziation von Kohlensäure eine ursprüngliche Eigenschaft der lebenden Zelle. Die Sauerstoffatmung soll wie die Nahrung bloß dazu dienen, die reduzierten Bestandteile des Protoplasmas wieder zu ergänzen. So würde der durch Reduktion des Zuckers entstandene Alkohol durch den Sauerstoff der Luft reoxydiert zu Zucker. Auch wo der Sauerstoff der Luft fehle, verlaufe die Kohlensäureabscheidung, die innere Verbrennung in derselben Weise und in demselben Maßstabe. Ist diese Theorie denn aber berechtigt? Im Gegenteil, sie ist schon widerlegt durch Versuche von Diakonow³⁾ und Pfeffer⁴⁾. Diese Forscher fanden, daß eine Kultur des *Penicillium glaucum* und anderer Schimmelpilze, die mit Chinasäure oder anderen nicht zuckerartigen Stoffen und Pepton ernährt, bei Luftzutritt kräftig atmete, sofort aufhörte, Kohlensäure zu bilden, sobald man die Luft abschnitt, und in kürzester Zeit abstarb. Es war also hier von intramolekularer Atmung nicht die Rede. Sobald dagegen Glykose mit Pepton geboten wurde, bildete *Penicillium* wenig, *Aspergillus niger* etwas mehr und *Mucor stolonifer* reichlich Kohlensäure. Das entspricht dem Grade ihrer Fähigkeit, den Zucker zu vergären. Mit anderen Worten: die Gärung ersetzt hier die Atmung, und ohne Gärung besteht keine innere Atmung. Die Sauerstoffentziehung hatte hier nicht etwa das Protoplasma geschädigt, denn die Pilze begannen wieder ebenso kräftig zu atmen, sobald ihnen Luft zugeführt war.

Durch die neuesten lehrreichen Versuche von Kostytschew⁵⁾ wird die Beweiskraft der Diakonowschen Feststellungen nicht geschmälert, sondern im Gegenteil gestützt. Seine erste Arbeit be-

1) Vgl. Ehrlich, Sauerstoffbedürfnis des Organismus, 1885.

2) Arbeit. d. bot. Inst. Würzburg 2. 500, 1880, vgl. auch Detmer, Jahrb. wiss. Bot. 12. 276, 1881.

3) Ber. bot. Ges. 1886. 2 und 411.

4) Arb. bot. Inst. Tübingen 1. 659, 1885.

5) Jahrb. wiss. Bot. 40 und Zentr. Bakt. 2. Abt. 13, 1904.

stätigte zunächst, daß der *Aspergillus niger* bei Ernährung mit kohlehydratfreien Stoffen (Pepton, Chinasäure, Weinsäure und Raulinscher Salzlösung) einige Stunden lang keine Kohlensäure bildet, wenn ihm der Sauerstoff entzogen wird, d. h. in reiner Stickstoffatmosphäre. Allerdings tritt dann bei Fortsetzung der Sauerstoffabspernung zeitweise doch wieder eine Kohlensäureentwicklung ein, kommt aber bald wieder zum Stillstand. Eine fünftägige sporenbildende Kultur ergab z. B. bei 18° in den verschiedenen Perioden folgenden Gaswechsel (auf je 10 Stunden berechnet):

I. Luftzutritt (1 Std.)	.	68,6 ccm CO ₂ ;	37,1 ccm O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 1,85
II. Luftabschluß (2 Std.)		0 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = —
III. „ (16 Std.)		1,0 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
IV. „ (8 Std.)		Spur CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = —
V. Luftzutritt (2 Std.)	.	3,7 „ CO ₂ ;	7,9 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 0,47
VI. „ (6 Std.)	.	3,1 „ CO ₂ ;	2,2 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 1,43

Durch welche Zersetzungen die Kohlensäure hier geliefert wird, ist noch nicht festgestellt, vielleicht bilden die Zellen selbst sich Kohlehydrate, die dann durch alkoholische Gärung zerfallen. Interessant ist dabei auch noch die Veränderung, die der Gaswechsel erleidet bei Wiederaufnahme der Luftatmung (V). Zunächst wird Sauerstoff aufgenommen und wenig Kohlensäure gebildet; erst später erreicht der Atmungsquotient wieder den gewöhnlichen Stand. Die Sauerstoffaufnahme ist also in gewissem Umfange unabhängig von der Kohlensäureabscheidung. In seiner zweiten Arbeit beschäftigt sich K o s t y t s c h e w mit der Atmung der Mucorarten. Diese verhalten sich verschieden. Ein Versuch mit einer frischen Kultur des *Muc. stolonifer* ergab z. B.

I. Luftzutritt (2 Std.)	.	9,5 ccm CO ₂ ;	10 ccm O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 0,95
II. Luftabschluß (2 ³ / ₄ Std.)		6,6 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
III. „ (18 Std.)		14,5 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
IV. „ (25 „)		19,3 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
V. „ (22 „)		21,4 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
VI. „ (24 „)		12,0 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
VII. Luftzutritt (1 ¹ / ₂ Std.)		2,3 „ CO ₂ ;	0,4 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 6,6
VIII. „ (2 ¹ / ₄ „)		6,8 „ CO ₂ ;	7 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 0,96

K o s t y t s c h e w möchte aus dem niedrigen Atmungsquotienten bei Luftzutritt schließen, daß *Mucor stolonifer* kein Gärungserreger sei und erklärt die Kohlensäureausscheidung bei Luftabschluß als „intramolekulare Atmung“, die mit der Gärung „nicht ganz identisch“ sei. Wir möchten bis auf weiteres auch bei diesem Pilz die intramole-

kulare Atmung als Gärung betrachten, die freilich Besonderheiten hat. Sicher ist das Bestehen einer alkoholischen Gärung bei dem *Mucor mucedo* und namentlich bei dem *Mucor racemosus*. Folgendes Beispiel zeigt den Verlauf der Atmung bei dem letzteren Pilz:

I.	Luftzutritt	(1½ Std.)	.	7,5 ccm CO ₂ ;	2,8 ccm O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 2,7
II.	Luftabschluß	(1½ Std.)	.	?	?	?
III.	„	(1¾ „)	.	7,4 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
IV.	„	(20 „)	.	?	?	?
V.	„	(2¾ „)	.	11,3 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
VI.	„	(27 „)	.	?	?	?
VII.	„	(2 „)	.	11,5 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
VIII.	„	(16 „)	.	?	?	?
IX.	„	(2½ „)	.	8,8 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
X.	„	(24 „)	.	?	?	?
XI.	„	(2 „)	.	6,8 „ CO ₂ ;	0 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = ∞
XII.	Luftzutritt	(40 Min.)	.	?	?	?
XIII.	„	(1½ Std.)	.	6,4 „ CO ₂ ;	1,5 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 4,4
XIV.	„	(15½ „)	.	?	?	?
XV.	„	(1¾ „)	.	7,3 „ CO ₂ ;	2,3 „ O ₂ ;	CO ₂ : O ₂ = 3,2

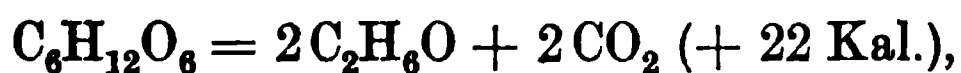
Hier besteht offenbar die Gärung, gleichgültig ob bei Sauerstoffzutritt oder -abschluß, ziemlich unverändert fort. Die Versuche mit den Azetondauerpräparaten derselben Pilze bestätigten im wesentlichen diese Eigenschaften (s. o. S. 679 ff.). Leider wurde niemals auf Alkohol gefahndet.

Versuche, die mit Hefepilzen angestellt worden sind, haben ähnliche Ergebnisse gehabt. Zunächst zeigte sich ganz allgemein, daß bei Verringerung der Luftzufuhr die Kohlensäureerzeugung in zuckerhaltigen Kulturen zwar nicht absolut, aber im Verhältnis zur Hefeernte zunahm, und, wie die gleichzeitigen Bestimmungen der Alkoholmengen ergaben, um so mehr der Vergärung des Zuckers ihren Ursprung verdankten, je schwieriger die Oxydation dieses Nährstoffes wurde. Wir sind auf diese Untersuchungen, bei denen nur die ausgeschiedene Kohlensäure gemessen wurde, an anderer Stelle ausführlich eingegangen (§ 233). Allerdings fehlt auch bei reichlicher Sauerstoffzufuhr die Gärung nicht vollständig, wie ja schon aus den Pasteurschen Gasbestimmungen zu erschließen war. Die unter Palladin's Leitung angestellten Versuche von Kollegorsky und Zassouchine¹⁾ vervollständigten diese Feststellungen, indem die Atmung der Hefe nicht nur in vergärbaren, sondern auch in nicht

1) Zentr. Bakt. 11, 95, 1903.

vergärbaren Nährböden untersucht wurde. Da die Zersetzung in kleinen verschlossenen, reichlich beimpften Gefäßen (Rollkulturen in Röhrchen), und eine Lüftung entweder gar nicht oder nur periodisch (bei der Gasentnahme) vorgenommen wurde, war der Luftzutritt nur beschränkt. Es zeigte sich nun, daß überall, wo vergärbare Stoffe vorhanden waren, der Atmungsquotient mehr oder weniger erheblich über 1 hinaufstieg (bis 9,6), im entgegengesetzten Fall unter 1 hinunterging (bis 0,59). Daß es sich im ersten Falle um eine Gärung handelt, sieht man aus dem oben besprochenen Versuch mit der Azetonhefe (S. 679), in dem offenbar wesentlich die Zymasewirkung zum Vorschein kommt.

§ 224. Fortsetzung. Befriedigung des Energiehunger durch die Gärung. Wenn sonach von einem „Lufthunger“ des Protoplasmas im allgemeinen nicht gesprochen werden darf, so darf man ihm um so mehr einen Energiehunger zuschreiben. Befriedigt wird er bei Sauerstoffabschluß auf die verschiedenste Weise, wie wir im einzelnen bei den Spaltungsgärungen dargelegt haben. Die chemischen Vorgänge sind zwar noch keineswegs überall klargestellt¹⁾. Immer handelt es sich aber wohl um Wanderungen von Sauerstoff- und Wasserstoffatomen im Molekül der Kohlenstoffverbindungen, die zum größten Teil oder immer unter Beteiligung des Wassers erfolgen. Meist entstehen dabei auf der einen Seite wasserstoffreiche, auf der anderen Seite sauerstoffreiche Körper, die Gärung besteht also gewissermaßen in nebeneinander verlaufenden Oxydations- und Reduktionsvorgängen. In jedem Falle ergeben sich Spaltungen, die mit erheblicher Wärmeentwicklung verlaufen. Und diese letztere, also der Energiegewinn, könne als wesentlicher Zweck der Gärungen bezeichnet werden²⁾. Es ist kaum nötig, das noch durch Beispiele zu belegen. In vielen Fällen ist das höher oxydierte Spaltungsprodukt Kohlensäure, wie bei den vollständigen Oxydationen, das Reduktionsprodukt ein anderes Gas, wie Wasserstoff oder Sumpfgas oder ein verhältnismäßig sauerstoffarmer Körper. So spaltet sich bei der alkoholischen Gärung der Zucker in Kohlensäure und den sauerstoffarmen Alkohol (§ 84):



bei der Buttersäuregärung in Kohlensäure, Buttersäure und Wasserstoff (§ 114):



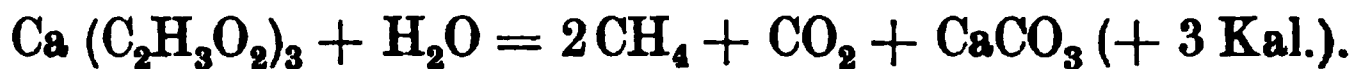
1) Vgl. § 61, S. 251, 294 usw.

2) Ausnahmen bzw. eine Beschränkung dieser Definition der Gärung s. u. S. 688.

bei der Butylalkoholgärung in Kohlensäure und Butylalkohol (S. 368):

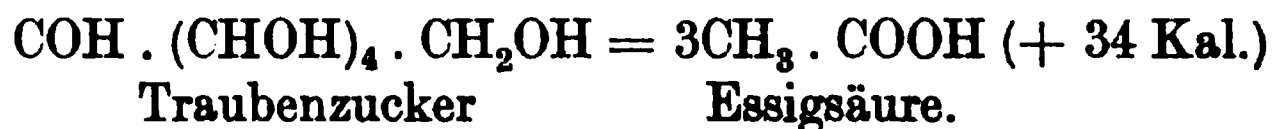
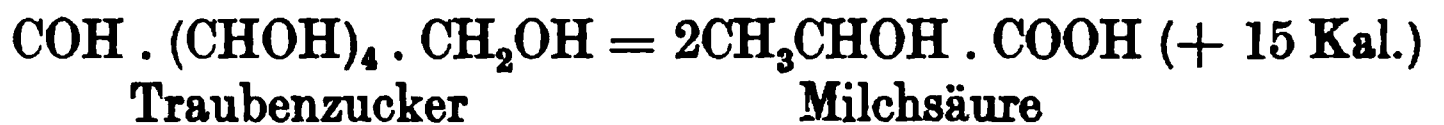


Bei den anaëroben Gärungen der höheren Alkohole (§ 131), Fettsäuren (§ 139 ff.) sehen wir ähnliches eintreten. So entsteht z. B. aus der Essigsäure einerseits Sumpfgas, andererseits Kohlensäure:



Es ist das, nebenbei bemerkt, eine Gärung mit besonders spärlicher Wärmebildung.

Bei der Milchsäure- und anaëroben Essigsäuregärung des Zuckers entstehen zwar keine höher und niedriger oxydierten Produkte und auch weder Kohlensäure noch Wasserstoff oder überhaupt ein Gas; der Sauerstoff wandert aber auch hier und häuft sich auf der einen Seite des Moleküls in der Karboxylgruppe an, während die andere zur Methylgruppe reduziert wird, und das Ergebnis ist eine Spaltung, die unter starker Wärmebildung verläuft:



Einige Gärungen, in erster Linie die von uns sog. Wasserstoffgärung der Kohlenhydrate (§ 105):



machen insofern vor allen übrigen eine Ausnahme, als sie keine Wärme entwickeln, sondern binden. Trotzdem haben wir allen Grund, sie als einen in gewissen Grenzen selbständigen Vorgang anzusehen, der freilich auf die Dauer nicht denkbar ist, ohne andere Wärme liefernde, die dann auch regelmäßig nebenher gefunden werden. Wie wir uns vom teleologischen Standpunkte die Entstehung dieser Gärung denken sollen, steht dahin.

Durch diese und andere „Mischgärungen“ (vgl. z. B. § 98, 114 u. 115) werden die energetischen Verhältnisse vielfach recht undurchsichtig. Noch mehr gilt das aber für die tieferen Spaltungen der Eiweißkörper, die zur „Fäulnis“ und zum Teil auch zur „Verwesung“ in Beziehung stehen (§ 167 ff.). Die Umsetzungsgleichungen, die wir dafür angeben können, sind zum größten Teil noch hypothetisch, und auch ihr Wärmewert wäre noch im einzelnen festzustellen (vgl. S. 704).

Außer dem Sauerstoff und Wasserstoff der betreffenden Kohlenstoffverbindungen beteiligt sich an diesen Veränderungen vielfach,

wie oben bemerkt, der Sauerstoff (und Wasserstoff) des Wassers. Manche Autoren nehmen sogar nach dem Vorgang von B a e y e r auch bei denjenigen Gärungen, die nach unseren Formeln als einfache Spaltungen erscheinen, wie die Alkohol- und Milchsäuregärung, eine vorübergehende Beteiligung, einen Ein- und Austritt von Wassermolekülen an. Soviel steht aber fest, daß der Sauerstoff der Luft nicht in diese Gärungsprozesse unmittelbar eingreift. In denjenigen Fällen, in denen nachweislich die Gärung möglich ist oder sogar bei Zutritt von Sauerstoff bis zu einem gewissen Grade begünstigt wird, z. B. bei der alkoholischen Vergärung des Zuckers durch Hefe (§ 91), wirkt der Sauerstoff nur mittelbar, indem er das Wachstum der Mikroorganismen und vielleicht die Bildung des Gärungsenzyms befördert¹⁾. Die Analyse des Gaswechsels ergibt dann zwar viel höhere Werte²⁾ des Atmungsquotienten $\text{CO}_2 : \text{O}_2$ als bei den echten nicht gärungsfähigen Aërobiern (§ 219 u. 220), beweist aber immerhin durch seine endliche Größe die mehr oder weniger kräftige Aufnahme von Luftsauerstoff. Derartige Fälle lehren uns, daß Luftatmung und Gärung oder wie man sie auch genannt hat, „intramolekulare Atmung“ nebeneinander bestehen können, also sich nicht unter allen Umständen ausschließen, wie z. B. P f e f f e r das ursprünglich angenommen hatte. Insofern ist also der alte P a s t e u r s c h e Satz, daß G ä r u n g L e b e n o h n e S a u e r s t o f f s e i, zu beschränken. Richtig bleibt er jedoch in folgender Form: L e b e n o h n e f r e i e n S a u e r s t o f f w i r d e r s t e r m ö g l i c h t d u r c h d i e G ä r u n g. Wenn dagegen immer noch Widersprüche laut werden, so beruht das auf dem Umstand, daß man die Gärungen mit Spaltungen, die unter Gasbildung verlaufen, identifiziert hat. Davon kann ja keine Rede sein, wie schon das Beispiel der Milchsäuregärung beweist. Es ist bisher in keinem Falle nachgewiesen, daß in Abwesenheit gärungsfähiger Körper ein anaërobes Wachstum möglich ist. Selbstverständlich macht die Erkenntnis, daß in den Gärungen der Zelle kraftliefernde Prozesse zur Verfügung stehen, die von neueren Biologen (z. B. V e r w o r n ³⁾, R e i n k e ⁴⁾) vertretene Annahme, nach der in dem „beständigen Zerfall des Protoplasmas“ eine notwendige Kraftquelle gegeben sei, überflüssig. Sie fällt freilich mit unserer Auffassung zusammen, wenn man die Fermente

1) Wahrscheinlich ist es ähnlich bestellt mit den Gärleistungen anderer Aërobier, z. B. dem Eiweißspaltungsvermögen der die Verwesung bewirkenden Bakterien und Pilze (§ 171 u. 172, 176).

2) Näheres über die Abhängigkeit des Wachstums und der Gärung vom Sauerstoffzutritt bei der Hefe im § 233.

3) Allgem. Physiologie.

4) Theoretische Biologie.

als Seitenketten des Protoplasmas betrachtet und die vergärbaren Nährstoffe durch die letzteren in (vorübergehende) Verbindung mit dem Protoplasma treten läßt (§ 67 u. 68).

Vergleicht man den Wärmewert der Spaltungsgärungen mit dem der Oxydationen (§ 227), so bemerkt man einen großen Unterschied zuungunsten der ersteren. Ausgeglichen wird dieser Unterschied aber dadurch, daß die Gärungen im allgemeinen verhältnismäßig viel größere Stoffmengen zersetzen, als die Oxydationen (vgl. § 232—236). Man hat daher in dem größeren Umfang der Zersetzungen geradezu ein wesentliches Merkmal der Gärungen sehen wollen. Wenn das der Regel entspricht, so hat sie doch Ausnahmen. Erstens wird man Zersetzungen, die im übrigen durchaus echten Gärungen entsprechen — z. B. die Entstehung von Alkohol und Kohlensäure aus Zucker —, nicht bloß deswegen, weil sie bei den betreffenden Kleinwesen (z. B. Milchsäurebakterien) in geringerem Umfange vorkommen als bei den Haupterregern der Gärung (Hefepilzen), als andersartige Erscheinungen betrachten und sie etwa als „Stoffwechselvorgänge“ von den Gärungen trennen dürfen. Vielmehr sind diese sehr häufigen Fälle unseres Erachtens nur Zeugnisse dafür, daß die *A n l a g e* zu diesem oder jenem Gärvermögen viel weiter verbreitet vorkommt, als dessen höchste Ausbildung. Wenn man bedenkt, daß die Gärungen, wie alle anderen Leistungen von Zellen, sich im Laufe der Stammesgeschichte allmählich entwickelt haben müssen, kann es ja auch gar nicht anders sein (vgl. § 359).

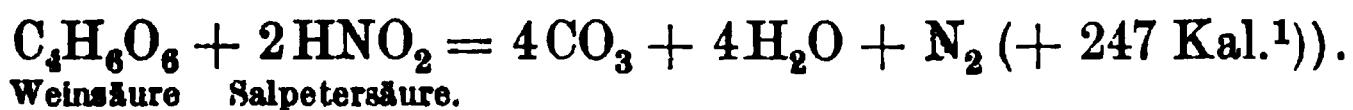
Außerdem gibt es aber noch Zersetzungen, die den Spaltungsgärungen ihrer chemischen Natur nach ähneln, aber sich von ihnen dadurch unterscheiden, daß die Spaltungsprodukte nicht für den weiteren Stoffwechsel verloren sind, d. h. bloß der Kraftlieferung dienen, sondern zum Teil — oder auch vollständig? — zum Aufbau der Zellsubstanz verwandt werden. Dahin gehört nach F. E h r l i c h die Zerspaltung der Aminosäuren in Alkohole (Fuselöl) und Ammoniak (§ 173). Es ist sehr wohl möglich, daß derartige Vorgänge sehr häufig, ja regelmäßig vorkommen, daß also kurz gesagt die *A s s i m i l a t i o n* der *K o h l e n h y d r a t e*, *E i w e i ß s t o f f e* usw. ganz gewöhnlich auf dem Umwege über diese oder jene Gärung erfolgt (§ 229—231).

§ 224 a. **Gärungsenzyme.** Gärungsenzyme sind bisher dargestellt für die Alkoholgärung der Hefe und Pilze (§ 89), die Milchsäuregärung einzelner Bakterien (§ 101) und manche Spaltungen der Aminosäuren (§ 166, 169). Wenn man will, kann man wegen ihrer starken Wärmeentwicklung die Harnstoffgärung (§ 195) auch hierherziehen, obwohl sie eine gewisse Verwandtschaft mit den hydrolytischen Spaltungen

hat. Wahrscheinlich wird uns die Zukunft noch viel mehr solcher Enzyme bescheeren. Selbst wenn das aber nicht der Fall sein sollte, so würden wir dadurch noch nicht an dem Vorhandensein derselben in allen Fällen von Gärung zu zweifeln berechtigt sein. Unsere Darstellungsmethoden sind eben unvollkommen (vgl. § 67 u. 240).

§ 225. **Atmung durch sauerstoffreiche Verbindungen.** Neben der Atmung durch den freien Sauerstoff der Luft und der intramolekularen Atmung, die wir als Gärung erkannt haben, gibt es noch eine solche, die erfolgt auf Kosten sauerstoffhaltiger Verbindungen, und zwar, soweit bisher bekannt, bloß anorganischer, nämlich der Salpetersäure und salpetrigen Säure, der Schwefelsäure und vielleicht auch der Kohlensäure. Auch sie bezeichnet der Sprachgebrauch zwar zum Teil als Gärungen, weil eine reichliche Gasentwicklung dabei stattfinden kann, doch sind es Gärungen anderer Art als die bisher von uns betrachteten Spaltungsgärungen: es handelt sich um Reduktion der Sauerstoffverbindungen und gleichzeitig um Oxydation anderer Stoffe. Die letztere schafft die nötige Energie für die erstere.

Die (salpetrige und) Salpetersäure dient, wie wir § 198 (u. 197) gesehen haben, den Denitrifikationsbakterien als Sauerstoffquelle, und zwar verbrauchen die Erreger der echten „Stickstoffgärung“ den gesamten Sauerstoff des ihnen gebotenen Salpeters und verbrennen damit kohlenstoffhaltige Nahrungsmittel wie Zucker, Glyzerin, organische Säuren vollständig zu Kohlensäure und Wasser, während Stickstoff frei wird. Es ist wohl kein Zufall und beruht vielleicht auf einer Verwandtschaft von eigentlichen Oxydations- und denitrifizierenden Fermenten, daß die Denitrifikationsbakterien gerade Mikroben sind, die sonst den Luftsauerstoff dringend nötig haben und die Verbrennungen mit seiner Hilfe ebenso bewerkstelligen, wie mittelst des Sauerstoffs der Salpetersäure. Je nach der Art der Mikroben ziehen sie bald die eine, bald die andere Sauerstoffquelle vor. Der Prozeß verläuft, wenn wir z. B. Weinsäure als Brennmaterial haben, nach folgender Gleichung:

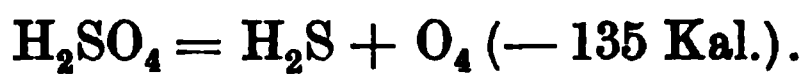


Wenn wir die hierbei erzeugte Energie mit derjenigen vergleichen, die bei der Verbrennung der Weinsäure durch Luftsauerstoff frei wird

1) Die Lösungswärme der Kohlensäure in Wasser ist hier berücksichtigt, weil die alkalische Lösung die Entbindung gasförmiger Kohlensäure bei der Denitrifikation verhindert. Um die Energiegleichung für die Umsetzungen der entsprechenden Salze aufzustellen, müßte sie etwas umgeformt werden; doch kann die Abweichung nur gering sein.

(Gleichung 7 auf S. 669), so sehen wir, daß der Unterschied nicht sehr erheblich ist, daß also die Reduktion der Salpetersäure zu Stickstoff an sich keinen großen Energieaufwand erfordert¹⁾.

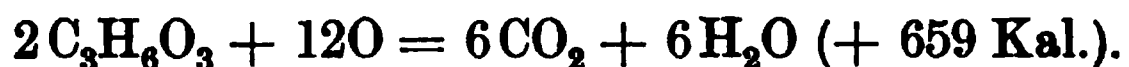
Etwas anders liegt die Sache bei den sulfatreduzierenden Bakterien, den Erregern der „Schwefelwasserstoffgärung“ (S. 655). Auch hier wird zwar der dabei gewonnene Sauerstoff zur vollständigen Oxydation organischer Nährstoffe benutzt, die Reduktion der Schwefelsäure zu Sauerstoff verbraucht aber den größten Teil der dabei entwickelten Energie, denn es ist



Die Verbrennung von 2 Molekülen Milchsäure durch 3 Moleküle Schwefelsäure, die nach der Gleichung vor sich geht:

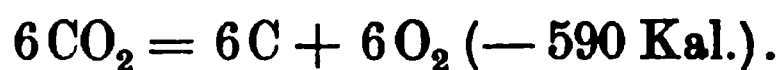


erzeugt daher nur etwa 40% der Wärme, die bei der vollständigen Oxydation der Milchsäure durch den Sauerstoff entbunden wird:



Bemerkenswert ist ferner, daß die Schwefelsäure, soweit bekannt, nur strengen Anaëroben als Atmungsquelle dient, die Luftatmung hier also nicht in Wettbewerb treten kann.

Anaërob sind auch die Purpurbakterien, die nach Engelmann (S. 647) die Eigenschaft besitzen sollen, unter dem Einfluß des Lichtes aus der Kohlensäure Sauerstoff abzuspalten und diesen Sauerstoff wenn auch nur zum Teil zu demselben Zwecke verwenden, wie die farblosen Schwefelbakterien den Luftsauerstoff, nämlich um den Schwefelwasserstoff ihrer Nahrung zu Schwefelsäure zu oxydieren. Nehmen wir selbst diesen von Molisch u. a. bestrittenen Tatbestand an, so verbleiben doch viele Unklarheiten, namentlich über die Energieverhältnisse des Prozesses. Leisten die Lichtstrahlen die gesamte Reduktionsarbeit, die sich durch die folgende Gleichung wiedergeben läßt?



Und sind sie etwa auch beteiligt bei dem Aufbau der organischen Stoffe (Kohlenhydrate?) aus dem Kohlenstoff?

1) Vgl. S. 611. Die Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak, die nicht bloß für die Assimilation derselben in Frage kommt, erfordert erheblich mehr Energie (S. 614). Insofern ähnelt also die „Ammoniakgärung“ der Schwefelwasserstoffgärung (s. u. im Text).



Wahrscheinlich wird ein mehr oder weniger großer Teil dieser $590 + 106 = 696$ Kal. gedeckt durch die Oxydationsleistung des abgespaltenen Sauerstoffs. Die Möglichkeit dazu besteht sehr wohl, denn wir haben ja (S. 644)



Auch der bei der Reduktion der Kohlensäure durch Aërobier, die bei der sogenannten Nitrifikation (§ 196) und bei der Schwefelsäuregärung Nathansons und Beijerincks (§ 210) ohne Mitwirkung des Lichtes erfolgt, freiwerdende Sauerstoff kann natürlich ebenso gut (oder vielleicht besser) wie der atmosphärische Sauerstoff zur Oxydation der Nahrungsstoffe — im ersteren Falle Ammoniak und Nitrit, im letzteren Schwefelwasserstoff oder Thiosulfat — verwandt werden, genügt aber offenbar nicht allein zur Leistung der nötigen Arbeit, weswegen eben der Luftsauerstoff herangezogen werden muß. Es geschieht das sogar in weit größerem Maße, als rechnerisch nötig wäre (a. a. O.).

Enzyme sind für alle diese Vorgänge noch nicht gefunden worden. Wohl ist das der Fall bei den für das Leben der Mikroben freilich kaum wesentlichen Oxydationen aromatischer Stoffe, sie werden auf Kosten von Peroxyden (z. B. H_2O_2) durch sog. Peroxydasen vermittelt.

§ 226. **Atmung im Hungerzustande. Selbstverbrennung.** Auch bei den Mikroorganismen geht, wie bei den höheren Lebewesen, der Stoffwechsel im Hungerzustande eine Zeitlang weiter. Bei Besprechung der intrazellulären Verdauungsenzyme (§ 166) und der Gärung der Hefe (§ 91) haben wir schon die Selbstverdauung und Selbstvergärung erwähnt. Sie erklären sich dadurch, daß nicht nur die im Zellkörper aufgespeicherten Nahrungsstoffe (Reservestoffe), sondern schließlich auch das Protoplasma selbst der Wirkung seiner Enzyme verfällt. Praktisch kaum, aber wohl begrifflich davon zu trennen ist die Luftatmung im Hungerzustande, die Selbstverbrennung.

Für Schimmelpilze (*Aspergillus niger*) ist diese genauer studiert worden von Puriewitsch¹⁾ und Kosinski²⁾. Wie zu erwarten, kommen beide Forscher zu dem Ergebnis, daß Entziehung der Nahrung — z. B. durch Auswaschen der Pilzrasen mit physiologischer Kochsalzlösung und Ersatz der Nährlösung durch diese — die Atmungsgröße stark, und zwar schon in kürzester Zeit, herabsetzt,

1) Jahrb. wiss. Bot. 35, 1900.

2) Ebenda 37, 1902.

z. B. die Menge des stündlich aufgenommenen Sauerstoffs von 10 bis 12 auf 4—5 ccm vermindert. Bemerkenswerterweise sinkt dabei die Kohlensäureproduktion mehr¹⁾ als die Sauerstoffaufnahme: der Atmungsquotient fällt also, z. B. von 1—1,3 auf 0,8—0,9. P u r i e - w i t s c h schiebt das darauf, daß statt des vorher gebotenen Zuckers Eiweißstoffe, K o s i n s k i, daß statt dessen Fett oder organische Säuren verbraucht werden²⁾. Da genauere Bestimmungen der gelösten Stoffwechselprodukte fehlen, wäre vorläufig die Annahme ebenso berechtigt, daß die etwa vorhandenen kohlenhydratartigen Reservestoffe (Glykogen?) im Hungerzustande nicht vollständig zu Kohlensäure und Wasser, sondern zu einer Zwischenstufe wie Oxalsäure oxydiert würden.

Eine andere Form der Selbstverbrennung haben G r é h a n t und Q u i n q u a u d³⁾ bei Hefe gefunden, die in destilliertem Wasser aufgeschwemmt war. Die für verschiedene Temperaturen festgestellten Atmungsgrößen sind interessant genug, um hier abgekürzt wiedergegeben zu werden:

1 g frische Hefe in Wasser			CO ₂ : CO ₂
bei den Temperaturen von	nahm stündlich Sauerstoff auf	gab stündlich Kohlensäure ab	
0°	0,48 ccm	0,42 ccm	0,87
13,8°	0,97 „	1,04 „	1,06
21°	1,52 „	2,40 „	1,50
26°	1,86 „	3,48 „	1,90
36°	1,59 „	2,84 „	3,40
46°	1,97 „	8,92 „	4,50

Trotz einiger Unregelmäßigkeiten läßt sich aus diesen Ergebnissen schließen, daß die Sauerstoffaufnahme bei verschiedenen Temperaturen anderen Gesetzen folgt, als die Kohlensäureabgabe. Der Atmungsquotient steigt beständig mit der Temperatur, und zwar von 0,87—4,5, d. h. schließlich zu einer Höhe, die bei keiner Oxydation

1) Auch die Vergiftung mit Blausäure lähmt nach H. S c h r ö d e r (ebenda 44, 1907) die Kohlensäureproduktion des Aspergillus, dagegen nicht völlig die Sauerstoffaufnahme.

2) Die Verbrennung der Fette im Hungerzustande der Eurotiopsis Gayoni ist von M a z é allerdings nachgewiesen worden (S. 61). Der dabei stattfindende Zuwachs an Kohlehydraten (auf Kosten des Eiweißes?) verwickelt aber den Prozeß.

3) Annal. sc. natur. botanique 1889 S. 269.

erreicht wird (S. 669 ff.). Wir werden also annehmen müssen, daß die hungernde Hefezelle bei niedrigen Temperaturen im wesentlichen nur Bestandteile ihres Körpers mit Hilfe des Luftsauerstoffs oxydiert, bei höherer Temperatur sie aber auch durch intramolekulare Atmung zersetzt. Am nächsten ist es, dabei an die *a l k o h o l i s c h e V e r g ä r u n g* des Glykogens zu denken; aber auch die Selbstverdauung der Eiweißstoffe wird vielleicht einen Teil der überschüssigen Kohlensäure liefern. Bei Temperaturen über 50° verminderte sich die Atmungstätigkeit und der Atmungsquotient sank allmählich wieder unter 1, bei 60° hörte die Atmung ganz auf, ein Zeichen dafür, daß wir es hier mit einer echten Lebenserscheinung — natürlich unter Beteiligung von Fermenten —, nicht mit einem rein chemischen Vorgang zu tun haben¹⁾.

Bei mittleren Temperaturen nimmt die hungernde Hefe nach Gréhan t und Q u i n q u a u d auf 1 g frischen Gewichts binnen 24 Stunden etwa 50 mg Sauerstoff auf, auf 1 g Trockengewicht also 250 mg, eine Zahl, die mit der von S c h ü t z e n b e r g e r²⁾ schon früher erhaltenen GröÙe gut übereinstimmt. Wenn wir sie vergleichen mit der Sauerstoffmenge, welche Hefe in guten Nährlösungen verbraucht (S. 672), so finden wir ein Verhältnis von 1 : 2—4, wie es nach K o s i n s k i (s. o.) auch für Schimmelpilze besteht. Bei höheren Tieren und dem Menschen ist die Abnahme der Sauerstoffatmung im Hunger eine viel geringere.

Für Bakterien besitzen wir ähnliche Untersuchungen zwar nicht, aber die Ergebnisse, die H e s s e (S. 675) mit Kulturen, die über Wochen und Monate, d. h. bis zum Absterben gezüchtet wurden, gehabt hat, lassen erwarten, daß auch hier die Selbstverbrennung ähnlich verläuft, wie bei den Pilzen. Die bekannte Laboratoriumserfahrung, daß die Lebensfähigkeit von beliebigen bakterienhaltigen Stoffen wie Kulturen und dergleichen im allgemeinen viel länger erhalten bleibt, wenn für niedere Temperatur und Sauerstoffabschluß gesorgt ist, spricht in demselben Sinne³⁾.

Wird das Hungern zu lange fortgesetzt, so erfolgt auch bei den Mikroorganismen schließlich der Tod (vgl. § 36 u. 37). Wieweit ihr

1) Nicht immer ist das aber wohl der Fall. So sah R u b n e r auch bei 60° noch Kohlensäure entweichen (Arch. f. Hyg. 55). Das erinnert daran, daß nach R e i n k e (1881) selbst im trockenen Zustand eine Zersetzung des Protoplasmas — Ammoniakabgabe — möglich ist.

2) Les fermentations, 1875 (nach D u c l a u x, Microbiologie 3. 228).

3) Über die Bedeutung, die die Selbstverbrennung wahrscheinlich für die S e l b s t r e i n i g u n g des W a s s e r s hat s. o. S. 573 u. 676.

Körpergewicht dabei heruntergehen kann, ohne daß das Leben erlischt, ist nicht bekannt.

Teilweises Hungern, d. h. der Mangel des einen oder anderen notwendigen Nährstoffes, wirkt natürlich nicht so eingreifend. Ersetzt man z. B. nach K o s i n s k i die gewöhnliche Nährflüssigkeit durch einfache Zuckerlösung, so vermindert sich die Atmungsgröße viel weniger und langsamer.

§ 227. **Berechnung der Wärmeentwicklung bei der Atmung und Gärung.** Den auf den vorhergehenden Seiten (S. 669 ff.) und in den früheren Kapiteln wiedergegebenen Formeln haben wir überall, soweit möglich, die Kalorienzahl beigelegt, die dem betreffenden chemischen Prozeß entsprechen¹⁾. Wir können uns daher jetzt ein zahlenmäßig genaues Bild machen von der bei den Atmungs- und Gärungsprozessen entwickelten Energie und dem dabei stattfindenden Stoffverbrauch. Zunächst sehen wir (§ 219), daß die durch die Oxydation entstehenden Energiemengen ziemlich ungleich sind, sie schwanken zwischen 18 Kal. bei der Oxydation der salpetrigen Säure zu Salpetersäure und 86 Kal. bei der Verbrennung des Traubenzuckers zu Zitronensäure, bewegen sich allerdings gewöhnlich zwischen 50—60 (kleinen) Kalorien für jedes Milligramm Sauerstoff, das gebunden wird²⁾.

Größere Unterschiede ergeben sich, wenn man berechnet, wieviel Nährstoff verbraucht wird durch die Oxydation mit gleichen Teilen Sauerstoff.

Tafel I. Ein Milligramm Sauerstoff verbraucht:

5,6 mg	Oxalsäure zu Kohlensäure	und erzeugt dabei	3,7 Kal.
3,9 „	Traubenzucker zu Zitronensäure	„ „ „	5,4 „
2,9 „	salpetrige Säure zu Salpetersäure	„ „ „	1,1 „
1,9 „	Weinsäure zu Kohlensäure	„ „ „	3,3 „
1,4 „	Alkohol zu Essigsäure	„ „ „	3,5 „
1,4 „	Asparagin zu Kohlensäure	„ „ „	3,5 „
1,2 „	Traubenzucker zu Oxalsäure	„ „ „	3,4 „
0,9 „	Traubenzucker zu Kohlensäure	„ „ „	3,4 „

1) Nach O s t w a l d s Handb. berechnet und teilweise nach H e r z o g (Zeitschr. physiol. Chem. 37) wiedergegeben. Die unmittelbar (kalorimetrisch) bestimmten Wärmewerte der Gärungen usw., die zum Teil nicht mit den berechneten übereinstimmen, werden in § 237 besprochen.

2) Hier und im folgenden sehen wir ab von der Verbrennung des Wasserstoffs, des Kohlenoxyds, des Sumpfgases usw., die auch von Mikroorganismen geleistet werden kann (vgl. S. 116).

0,9 mg Milchsäure zu Kohlensäure	und erzeugt dabei	3,4 Kal.
0,9 „ Glykokoll zu Kohlensäure	„ „ „	3,2 „
0,7—0,8 mg Eiweiß (Pepton) zu Kohlensäure	„ „ „	3,4 „
0,55 mg Leuzin zu Kohlensäure	„ „ „	3,3 „
0,5 „ Alkohol zu Kohlensäure	„ „ „	3,4 „
0,5 „ Schwefelwasserstoff zu Schwefelsäure	„ „ „	3,2 „
0,35 „ Ammoniak zu salpetriger Säure	„ „ „	1,6 „
0,35 „ Palmitinsäure zu Kohlensäure	„ „ „	3,2 „

Bei weitem die größten Mengen Brennstoff im Verhältnis zum verbrauchten Sauerstoff sind also nötig bei der Verbrennung der Oxalsäure zu Kohlensäure, des Traubenzuckers zu Zitronensäure und der salpetrigen Säure zu Salpetersäure, umgekehrt sind sehr geringe Mengen Brennstoff nötig bei der Verbrennung der Palmitinsäure und anderer höherer Fettsäuren, sowie der entsprechenden Aminosäuren und des Alkohols zu Kohlensäure (bzw. Kohlensäure und Ammoniak), des Ammoniaks zu salpetriger Säure, des Schwefelwasserstoffs zu Schwefelsäure.

Eine etwas andere Reihenfolge und noch größere Unterschiede erhalten wir, wenn wir die Energiemengen vergleichen, die gleiche Stoffmengen bei ihrer Verbrennung entwickeln.

Tafel II.

Ein Milligramm der Nahrungsstoffe entwickelt Kalorien¹⁾:

Salpetrige Säure (Salpetersäure)	0,4 Kal.
Oxalsäure	0,7 „
Traubenzucker (Zitronensäure)	1,4 „
Weinsäure	1,7 „
Alkohol (Essigsäure)	2,5 „
Asparagin	2,5 „
Traubenzucker (Oxalsäure)	2,8 „
Glykokoll	3,5 „
Milchsäure	3,6 „
Traubenzucker	3,7 „
Eiweiß	4,5—5,0 „
Ammoniak (salpetrige Säure)	4,6 „
Leuzin	6,0 „
Schwefelwasserstoff (Schwefelsäure)	6,4 „
Alkohol	7,1 „
Palmitinsäure	9,2 „

1) Das Verbrennungsprodukt ist, soweit es nicht Kohlensäure ist, in Klammern beigelegt.

Auch hier stehen am Anfang der Reihe die drei „Oxydationsgärungen“¹⁾, vor allem die Salpetersäure- und Oxalsäure-, dann die Zitronensäuregärung. Am anderen Ende finden wir ebenso wieder die vollständigen Verbrennungen der wasserstoffreichen und sauerstoffarmen Körper, der Palmitinsäure, des Alkohols, Schwefelwasserstoffs, Leuzins und Ammoniaks, die der Sprachgebrauch übrigens auch teilweise als „Gärungen“ bezeichnet.

Diesen Oxydationen durch freien Sauerstoff reihen sich, wie wir gesehen, unmittelbar an die Verbrennungen, die bei Abschluß des Luftsauerstoffs durch sauerstoffhaltige Verbindungen erfolgen (§ 225). Auch in ihren Energieverhältnissen ähneln sie ihnen sehr, denn wir finden, daß

1 mg Sauerstoff

der Salpetersäure 1,9 mg Weinsäure verbraucht und 3,1 Kal. entwickelt,
 „ Schwefelsäure 1,4 „ „ „ 1,4 „ „

Und ebenso entwickelt

1 mg Weinsäure unter dem Einfluß der denitrifizierenden
 Bakterien 1,6 Kal.
 1 mg Milchsäure unter dem Einfluß des Spirillum des-
 ulfuricans 1,0 Kal.

Viel geringere Energiemengen liefern die eigentlichen oder Spaltungsgärungen, welche die sogenannte intramolekulare Atmung darstellen (§ 223). Unter der freilich höchstens annähernd zutreffenden Voraussetzung, daß die früher für diese Reaktionen mitgeteilten Wärmewerte richtig seien, können wir folgende kleine Liste²⁾ aufstellen:

Tafel III. Ein Milligramm liefert bei der Gärung Kalorien:

Harnstoff bei der ammoniakalischen Gärung	0,23 Kal.
Traubenzucker bei der Butylalkoholgärung	0,21 „
„ „ „ Essigsäuregärung (anaërob)	0,19 „
„ „ „ Alkoholgärung	0,12 „
„ „ „ Buttersäuregärung	0,08 „
„ „ „ Milchsäuregärung	0,08 „
Essigsäure bei der Methangärung	0,05 „

1) Vorher würden wohl kommen die Glykon- und Glykuronsäuregärung des Traubenzuckers, für die uns die Zahlen fehlen.

2) Die Reaktionswärmen einiger anderer Gärungen, z. B. der Fäulnis, lassen wir hier beiseite, weil sie gar zu unsicher sind (vgl. § 237).

Die Zahlen bleiben sämtlich weit hinter den niedrigsten der Tafel II zurück. Um gleiche Energiemengen zu erzeugen, verbraucht also die intramolekulare Atmung verhältnismäßig größere Nährstoffmengen als die Sauerstoffatmung. Damit haben wir bis zu einem gewissen Grade eine Erklärung für die großen Unterschiede, die wir bei dem Studium des Stoffverbrauches durch die Mikroorganismen finden, je nachdem sie Gärung erregen oder nicht (vgl. § 232—234).

§ 228. Verflüssigungs- und Verdauungsvorgänge. Hydrolysen¹⁾. Während die bisher betrachteten Stoffumwandlungen im wesentlichen innerhalb der Zellen verlaufen und daher notwendigerweise für den Kraftwechsel der Mikroorganismen von Bedeutung sind, trifft das weniger zu für die mehr der Vorbereitung (Verdauung) des Nährbodens dienenden und daher häufig extrazellulär bewirkten Hydratations- und Verflüssigungsvorgänge, d.h. die Lösung und oberflächliche Spaltung der Di- und Polysaccharide (§ 69—83a), Glykoside (§ 153—156, 158 u. 158a), Eiweißkörper (§ 165 u. 166), Fette (§ 137 u. 138) usw. Sie scheinen übrigens auch sämtlich einen sehr geringen Energiewert²⁾ zu haben. Daß diese Vorgänge durch Enzyme vermittelt werden, haben wir in den einzelnen Abschnitten gesehen. Sie hier noch anzuführen, erübrigt sich wohl. In vielen Fällen von Vergärung der zusammengesetzten Kohlenhydrate durch Bakterien (s. Milchsäure-, Buttersäure-, Sumpfgasgärung) kennen wir bisher keine hydrolytischen Enzyme, die die eigentliche Gärung vorbereiten, vielleicht wird ihre Anwesenheit auch mit Unrecht vorausgesetzt, da es ja nicht sicher ist, daß eine hydrolytische der tieferen Spaltung notwendig vorhergehen muß. Immerhin bestände zum Teil die Möglichkeit, daß die bisherigen Mißerfolge nur auf den Schwierigkeiten der Darstellung bzw. auf der geringen Widerstandsfähigkeit der Enzyme beruhen (§ 240). Sicher ist jedenfalls, daß manche hydrolytischen Enzyme nur mit Mühe aus den Zellen befreit werden können. Gerade von ihnen könnte man am ehesten erwarten, daß sie doch etwas zur Kraftlieferung beitragen.

§ 228a. Reduktionen³⁾. Die mit Oxydation anderer Stoffe einhergehenden Reduktionen (der Nitrate, Nitrite, der Schwefelsäure, Kohlensäure), die zwar große Energiemengen verbrauchen, aber noch größere erzeugen, haben wir schon eben besprochen (§ 225 u. S. 696). Andere durch das Leben der Mikroorganismen bewerkstelligte Reduk-

1) Vgl. § 60.

2) Vgl. z. B. § 127. Über die „Harnstoffgärung“ vgl. vorige S. u. S. 597.

3) Vgl. § 63.

tionen haben wir bei der Mannitgärung des Zuckers (§ 124—126), den Veränderungen der Farbstoffe, des Schwefels, der tellurigen und selenigen Säure, des Arsens usw. behandelt. Wahrscheinlich verbrauchen sie ebenso wenig Wärme, wie die entsprechenden durch die sogenannten Oxydasen bewirkten Oxydationen der aromatischen Körper (S. 466) Wärme bilden. Es liegt das vor allem daran, daß sie einen zu geringen Umfang haben. Nur die Mannitgärung macht eine Ausnahme und sie erzeugt bemerkenswerterweise Wärme, verbraucht keine.

Reduktionsenzyme haben wir bei den Reduktionen der Farbstoffe (§ 161), Nitrate (§ 197), der Bildung von Schwefelwasserstoff aus Eiweiß (§ 205) und Schwefel (§ 211) erwähnt. Ihr Vorhandensein ist aber wohl nicht immer anzunehmen.

§ 228b. Anhydridbildung und Kondensationen. Gerinnung¹⁾. Größer ist dagegen offenbar wieder die biologische Bedeutung der erstgenannten Vorgänge, vor allem die Kondensation des Zuckers zu Stärke, Glykogen, Zellulose oder Schleim, die, wie wir sahen, sogar oft in solcher Ausdehnung erfolgt, daß man von einer schleimigen „Gärung“ usw. sprechen darf (§ 127—130). Trotzdem ist der Energiewert dieser Vorgänge ebenso wie der der Verflüssigung und Verdauung, deren Umkehrung sie darstellen, ein geringer, ob sie nun, wie gewöhnlich, Wärme binden, oder, wie bei der Dextrangärung (S. 403), Wärme bilden. Wahrscheinlich gilt das gleiche für die Kondensation des Eiweißes aus Pepton (Polypeptiden) und Aminosäuren²⁾ und die Bildung der Fette aus Glyzerin und Fettsäuren (§ 152).

Über die biologische Bedeutung der Gerinnungsvorgänge, insbesondere der bisher allein leidlich bekannten Labgerinnung, wissen wir fast nichts (§ 177). Ihr Wärmewert scheint ganz gering zu sein. Bei der Gerinnung der Milch durch Lab sah R u b n e r ³⁾ weder Wärme verschwinden noch entstehen, wohl eine gewisse Wärmebildung bei der Koagulation anderer Eiweißkörper⁴⁾.

Wahrscheinlich werden alle diese Vorgänge durch Enzyme vermittelt, und zwar vielleicht durch dieselben, die Verflüssigung und Hydrolyse verursachen. Jedenfalls ist es gelungen, mit Hilfe der Maltase (§ 79), Laktase (§ 82), des Hefeemulsins (§ 154), des Hefepreßsaftes (§ 90) Di- und Polysaccharide sowie phosphorhaltige organische Verbindungen aus ihren Bestandteilen aufzubauen. Vgl. die Umkehrbarkeit der enzymatischen Vorgänge (§ 251).

1) Vgl. § 64 u. 65.

2) Vgl. H e r z o g, Zeitschr. physiol. Chem. 37. 390, 1903.

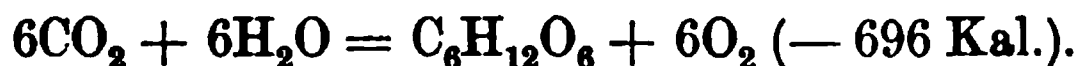
3) Arch. f. Hyg. 57. 254, 1906.

4) Ebenda 55. 266.

§ 229. Stoffaufbau¹⁾. Bildung der Kohlenhydrate. Wenn wir auch aus den eben erwähnten Tatsachen entnehmen können, daß Synthesen einfachster Art ebenso wie Spaltungen, Oxydationen usw. durch Enzyme vermittelt werden, und wenn wir daraus die Vermutung schöpfen, das ähnliche gilt für die verwickelten Synthesen, so wissen wir nichts Sicheres zu sagen über die Wege, auf denen der Aufbau des Zellprotoplasmas und der übrigen Zellbestandteile aus den einfachen Bausteinen der Nahrung vor sich geht. Mit anderen Worten, die „Assimilation“ der Nahrung ist uns immer noch ein Buch mit sieben Siegeln, so groß in den letzten Jahrzehnten die Fortschritte unserer Kenntnisse von den dem Kraftbetrieb dienenden Zersetzungsvorgängen, der „Dissimilation“, gewesen sind. Immerhin dürfen wir uns begründete Vorstellungen machen über den Energieaufwand, der zum Aufbau der Zellsubstanzen nötig ist, und können auch gewisse Möglichkeiten der Synthesen ins Auge fassen.

Die Kohlenhydrate kommen in der Zellmembran, den „Reservestoffen“ (Glykogen, Stärke usw. § 27), in geringer Menge auch im Eiweißmolekül vor. Sie können fast aus jedem kohlenstoffhaltigen Nahrungsstoffe gebildet werden.

Der Aufbau der Kohlenhydrate aus der Kohlensäure, der bei den Pflanzen die Regel bildet, findet nur bei wenigen allerdings weit verbreiteten Mikroorganismen statt, den Salpeter- (§ 196) und Schwefelsäurebakterien (§ 210), wahrscheinlich aber nicht bei den Purpurbakterien (§ 209). Was man darüber weiß, haben wir schon früher mitgeteilt. Der Vorgang der Assimilation selbst ist dunkel wie der der Kohlensäureassimilation durch die grünen Pflanzen. Man hat höchstens das Recht, als wahrscheinliches Endprodukt eine Hexose $C_6H_{12}O_6$ zu betrachten. Ob als erstes Zwischenprodukt Kohlenoxyd CO , weiter Formaldehyd CH_2O und aus diesem durch Polymerisierung oder Kondensation der Zucker hervorgeht, wie schon B a e y e r vermutete, oder Ameisen-, Oxal-, Weinsäure und dergleichen, ist unbekannt. Da es für die Energieleistung gleichgültig ist, auf welchem Wege sie erfolgt, wird sie in jedem Falle ausgedrückt durch die Gleichung:



Der Prozeß ist also eine Reduktion, die einen großen Energieaufwand erfordert. Bei den grünen Pflanzen leistet ihn bekanntlich mindestens zum Teil das Licht unter Beihilfe des Chlorophylls, Sauerstoff wird dabei in derselben Menge frei, wie Kohlensäure verschwindet. Bei den Mikroorganismen fehlt die Beteiligung des Lichtes, und die ge-

1) Vgl. § 66.

samte Energie wird durch Verbrennung des Ammoniaks, der salpetrigen Säure oder des Schwefelwasserstoffs bzw. Thiosulfats aufgebracht. Wahrscheinlich beteiligt sich daran der aus der Kohlensäure freier werdende Sauerstoff (§ 225), aber in viel höheren Grade noch der freie Luftsauerstoff, so daß die gesamte durch die Oxydation aufgebrachte Energie die zum Stoffaufbau erforderliche um ein Vielfaches übertrifft.

Mit weit geringerem Kraftaufwand bauen die Mikroorganismen natürlich den Zucker aus organischen Verbindungen auf. So könnte man sich allenfalls vorstellen, daß er aus der Essig- und Milchsäure durch einfache Umkehrung der Reaktion entstünde, die wir bei der anaëroben Essig- und Milchsäuregärung kennen gelernt haben (§ 103 u. 99):



Aërobe Mikroorganismen werden diese ganze Wärmemenge leicht gewinnen können durch Oxydationsprozesse, anaërobe, die ebenfalls gelegentlich mit diesen Säuren als einzigen Kohlenstoffquellen auszukommen scheinen (§ 141 u. 142), müssen schon erheblichere Stoffmengen vergären, um die Assimilation zu ermöglichen. Wenn sich die Ansicht Molischs bestätigt, daß die Purpurbakterien ihren Kohlenstoffbedarf nicht der Kohlensäure, sondern organischen Stoffen entnehmen und zu ihrer Assimilation wenigstens unter natürlichen Bedingungen des Lichtes bedürfen, so würde hier das Licht die Kräftezufuhr durch Oxydationen oder Gärungen zum Teil überflüssig machen.

Etwas verwickelter scheinen von vornherein die Verhältnisse, wenn der Aufbau des Zuckers aus sauerstoffreichen Säuren, wie Oxalsäure, Äpfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure geleistet werden soll, wie es bei den meisten bei Gegenwart von Luftsauerstoff, bei einigen auch bei Sauerstoffabschluß geschieht; Reduktionen sind dazu nötig, die man natürlich sehr billig durch naszierenden Wasserstoff erfolgen lassen könnte. Nur vereinzelt ist aber selbst bei den anaëroben Vergärungen der genannten Säuren die Entbindung von Wasserstoff nachgewiesen (S. 415). Man wird also an andere Wege denken müssen. Diese bieten sich insofern dar, als zu den Spaltungsprodukten dieser Gärungen gewöhnlich Essigsäure gehört, von der aus der Aufbau des Zuckers leicht verständlich ist (s. o.). Selbst da aber, wo sich freier Sauerstoff beteiligt, wäre ein ähnlicher Umweg über die Essigsäure nicht ausgeschlossen. Das gleiche gilt für den Aufbau des Zuckers aus Äthylalkohol, der ja nur Aërobiern möglich zu sein scheint. Die bekannte aërobe Essigsäuregärung (§ 135) wäre sonach ein Vorgang, der zu Zwecken der Synthese öfter in Frage käme,

als wir zunächst nach seiner beschränkten Verbreitung als „Gärung“ annehmen dürften.

Für die Bildung der Zucker aus Glyzerin, Mannit und anderen höheren Alkoholen könnte man, soweit sie ohne freien Sauerstoff verlaufen, Umkehrungen der früher besprochenen Gärungsprozesse (§ 106 u. 124) heranziehen, wenn man nicht auch hier wieder die Bildung aus der Essig- oder Milchsäure, die beide oft genug aus der anaëroben Zerspaltung der höheren Alkohole hervorgehen (§ 131), bevorzugen will. Durch einfache Oxydation werden wohl nur bestimmte Zuckerarten aus den Alkoholen entstehen (vgl. Sorbosegärung § 132).

Die Bildung von Polysacchariden aus Hexosen (und Pentosen) haben wir schon im § 228b besprochen. Sie erfordert die geringsten Energieleistungen.

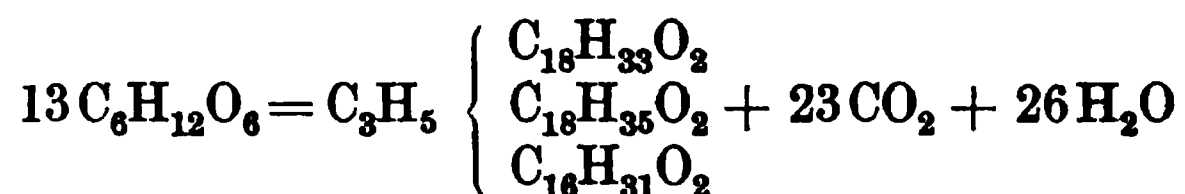
Daß Zucker von Kleinwesen auch aus F e t t e n und E i w e i ß - k ö r p e r n ¹⁾ aufgebaut werden können, ist nach zahlreichen Ernährungsversuchen (§ 33 und 149) nicht zu bezweifeln. Die ersteren werden dabei vielleicht sogar wieder zu Essig- oder Milchsäure oxydiert, die letzteren — wohl in der bekannten Weise ebenfalls zu niederen Fettsäuren — gespalten werden müssen. Im e r s t e r e n F a l l wird W ä r m e e n t w i c k e l t (§ 230), im l e t z t e r e n g e b u n d e n (§ 231). Gerade weil das so ist, wird man die Ansicht Mazés (S. 61), nach der bei der Selbstverdauung bzw. Selbstverbrennung der Eurotiopsis Gayoni Kohlenhydrate aus Eiweiß, nicht aus Fetten entstehen sollen, mit Mißtrauen betrachten müssen.

§ 230. **Bildung der Fette.** Die Fette sind überall auch bei Mikroorganismen nachgewiesen (§ 26), sie stellen wohl teils Vorratsstoffe, teils Hüll- oder Schutzstoffe dar. Entstehen können sie aus allen möglichen organischen Stoffen, einschließlich der Kohlenhydrate und des Eiweißes, wie die erfolgreichen Versuche, Mikroorganismen mit solchen Stoffen zu ernähren (§ 33), gezeigt haben. Über die Art und Weise, wie das geschieht, ist freilich fast nichts bekannt. Der Vorgang muß im allgemeinen der einer kräftigen R e d u k t i o n sein, da die Fette viel wasserstoffreicher und sauerstoffärmer als alle übrigen Nährstoffe sind. Die dafür aufgestellten Formeln sind sämtlich hypothetisch und weichen sehr voneinander ab²⁾. Im allgemeinen

1) Über die Art der Bildung wissen wir auch bei Tieren nichts sicheres. G r u b e (Pflügers Archiv 122. 451) fand neuerdings in Durchblutungsversuchen an der Leber der Schildkröte die Theorien, nach denen Zucker (Glykogen) im Tier aus Leuzin oder Alanin oder Glykokoll entstehen soll, nicht bestätigt.

2) Vgl. R o s e n f e l d, Fettbildung in A s h e r - S p i r o Ergebnisse der Physiologie 2. 89, 1903.

setzen sie **K o h l e n h y d r a t e** als Ausgangsstoffe voraus. Die Erfahrungen, sie mit der Ernährung des Tuberkelbazillus, dieses besonders fettreichen Mikroorganismus, gemacht worden sind, haben aber ergeben, daß **G l y z e r i n** ein für ihn fast geradezu unentbehrlicher Nahrungsstoff ist, ja sogar durch Fette selbst oder **Lezithin** nicht vollständig ersetzt werden kann. Der Gehalt des Tuberkelbazillenfetts an Glyzerin ist daran wohl allein nicht schuld, da er verhältnismäßig unbedeutend ist. Auffallend ist, daß alle fettreichen Organismen sehr luftbedürftig sind, ja ohne Sauerstoff überhaupt nicht leben können. Man darf aber annehmen, daß das bei dem geringen Sauerstoffgehalt des Fettes mit der Fettbildung unmittelbar nichts zu tun hat, während umgekehrt die Entstehung anderer Körperbestandteile aus Fett kaum ohne die Beteiligung freien Sauerstoffs gedacht werden kann. Das lehrt schon die Zusammenstellung der empirischen Formeln, die wir auf S. 668 gegeben haben, und die Tatsache, daß die Mikroorganismen, die mit Fett als einziger Kohlenstoffquelle auskommen, die luftliebenden Schimmelpilze sind. Zum großen Teil erklärt sich der Lufthunger des Tuberkelbazillus daraus, daß die **R e d u k t i o n** der **K o h l e n h y d r a t e** oder des **G l y z e r i n s** zu **F e t t e n** einen starken **E n e r g i e a u f w a n d** erfordert, der nur durch nebenherlaufende energische Oxydationen geleistet werden kann. In der Tat erfolgt z. B. die Bildung des Fettes nach der **H a n r i o t** schen Gleichung:



unter starker Wärmebildung (gegen 600 Kal.). Da der Tuberkelbazillus bis zu 30 und mehr Prozent Fett enthält, stellt seine Bildung eine sehr erhebliche Arbeitsleistung dar. An dem Energiebedarf wird selbstverständlich weiter nichts geändert, wenn wir uns vorstellen, daß die Bildung der Fette auch aus dem Zucker erst auf dem Umwege über niedrigere Fettsäuren erfolgt.

Aus dem in § 231 Gesagten ist ebenfalls die Folgerung abzuleiten, daß, wenn aus Eiweiß Fett entstehen soll, das nur mit einem beträchtlichen Energieaufwand möglich ist. Von vielen Seiten wurde früher namentlich für pathologische Zustände höherer Tiere die Möglichkeit dieser Stoffwandlung behauptet; neuerdings wird sie gerade hier mit guten Gründen bestritten¹⁾. Allerdings hat es auch bei Bakterien und Schimmelpilzen

1) **R o s e n f e l d**, Asher-Spiro Ergebnisse der Physiologie 1 und 2, 1902 und 1903.

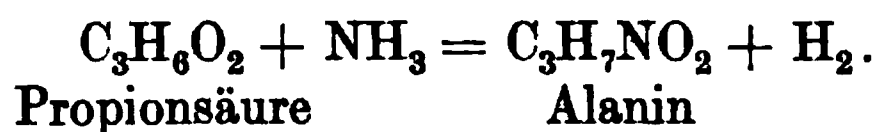
öfter den Anschein, als ob die Entstehung des Fettes in alternden Zellen gewissermaßen mit Händen zu greifen wäre (§ 22), man sieht es wenigstens reichlich in Tropfenform in Zellen erscheinen, die vorher frei davon schienen¹⁾. Genauere Analysen haben aber bei den „fettig degenerierten“ Organen höherer Tiere ergeben, daß der Schein trügt, daß das Fett schon vorher, nur nicht in Form von Tropfen, in den Zellen vorhanden ist. So könnte es wohl auch bei den Mikroorganismen sein. Man sieht von vornherein auch nicht ein, wie und zu welchem Zwecke ein Vorgang, der soviel Arbeit erfordert, gerade in absterbenden Zellen eintreten sollte. In der Tat fand denn auch Mazé, wie wir früher sahen (S. 61), bei der Analyse von Kulturen eines Schimmels, der *Eurotiosis Gayoni*, bei Luftzutritt, je älter sie wurden, sogar um so weniger Fett. Dem steht freilich die Angabe Duclaux' (S. 59) gegenüber, nach der in alter Hefe der Fettgehalt sich erheblich vermehrt haben soll. Vielleicht erklärt sich der Widerspruch aber daraus, daß das Fett beim Fortschreiten der Selbstverdauung nur einen relativ größeren Bestandteil in den Hefezellen ausmacht, absolut aber nicht an Masse zunimmt. Wie dem auch sei, so ist doch, wie oben schon bemerkt, unbestreitbar, daß die Kleinwesen auch bei reiner Ernährung mit Eiweißstoffen, Fett und Lecithin in gewissen Mengen in ihrem Körper bilden, also unter physiologischen Bedingungen, d. h. beim Wachstum, ein unmittelbarer oder mittelbarer Übergang des Eiweißes in Fett möglich ist, offenbar weil die Kraftquellen dabei reichlich fließen.

§ 231. **Bildung der Eiweißkörper.** Der wichtigste Bestandteil der Zelle, das Eiweiß, entsteht entweder aus stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen und Ammoniak oder aus stickstoffhaltigen Verbindungen allein (§ 32 u. 33). Auf diese Fälle lassen sich wenigstens alle übrigen zurückführen. Allerdings genügt vielen Mikroorganismen auch ein salpetersaures Salz zur Stickstoffernährung, aber aller Wahrscheinlichkeit nach muß die Salpetersäure die Umwandlung in Ammoniak erfahren, ehe sie assimiliert wird (§ 199). Ebenso wird die Kohlensäure wohl erst in einfache organische Substanzen (S. 699) übergeführt werden müssen, bevor sie zum Aufbau des Eiweißes weiter verwandt wird.

Mit diesen Sätzen hört aber auch fast unser ganzes Wissen über die Eiweißsynthese auf. Wir

1) Die Fettbildung in Milzbrandbazillen, die auf Glyzerinnährböden gezüchtet werden (S. 48), erfolgt so schnell, daß man kaum von einer nachträglichen Umwandlung des Eiweißes in Fett sprechen darf. Wahrscheinlich wird hier schon beim Wachstum auf Kosten des Glyzerins Fett gebildet. Analysen fehlen.

kennen zwar ein anscheinend notwendiges Zwischenstadium, das de Aminosäuren, und könnten uns vorstellen, daß diese aus den entsprechenden Säuren (Essig-, Propion-, Butter-, Baldrian-, Kapronsäure, Bernstein- und Glutarsäure, Phenyl- und Oxyphenylpropionsäure, Indolpropionsäure usw.) hervorgingen, in dem sie mit Ammoniak zusammenträten, z. B. nach der Gleichung:



Die Propionsäure selbst könnte ferner auf dem Wege über die Milchsäure aus dem Traubenzucker entstehen, der Aufbau des Alanins aus Zucker und Ammoniak sich also ausdrücken lassen durch die Gleichung:



In ähnlicher Weise würde man sich auch die Bildung der übrigen Aminosäuren aus dem Zucker vorstellen können, z. B. Glykokoll herleiten aus der Gleichung:



Leuzin aus der Gleichung:



Tyrosin aus der Gleichung:



Asparagin aus der Gleichung:



So einfach vielleicht diese Umsetzungen in den Formeln erscheinen, so fraglich ist es, ob sie tatsächliche Vorgänge ausdrücken, und so verwickelt sind sie in ihrer Gesamtheit, weil aus e i n e m u n d d e m s e l b e n S t o f f, also z. B. dem Zucker, der Essig- oder Milchsäure, dem Glyzerin, der Weinsäure, gleichzeitig a l l e diese verschiedenen Aminosäuren, und zwar wohl in ziemlich bestimmten Mengenverhältnissen (s. u.), entstehen sollen.

Auch wenn wir statt von stickstofffreien Körpern und A m m o n i a k von stickstoffhaltigen Nahrungsstoffen, z. B. den A m i n o -

1) Diese Zahl ist etwas zu hoch, da das Ammoniak nicht frei zur Verfügung steht, sondern erst aus seiner Verbindung mit einer Säure abgespalten werden muß. Dazu sind etwa 25 Kal. nötig. Die freiwerdende Säure wird sich dann freilich eine andere Bindung suchen und dadurch wieder Wärme erzeugen. Genaue Angaben sind nicht möglich, aber für unseren Zweck auch nicht nötig, da wir nur einen ungefähren Anhalt geben wollen.

säuren selbst ausgehen, wird die Sache nicht durchsichtiger. Viele Erfahrungen, insbesondere die Czapeks (S. 119), beweisen, daß eine einzige Aminosäure, z. B. das Leuzin und Alanin oder das Amid eines solchen (Asparagin), als einzige Kohlen- und Stickstoffquelle genügt, um das Eiweiß der Mikroorganismen aufzubauen. Man schließt im allgemeinen daraus, daß aus einer Aminosäure die Gesamtheit aller übrigen, die wir Eiweiß nennen, hervorgehen kann. Streng genommen ist der Beweis freilich noch nicht geführt, weil bisher noch in keinem Falle das bei solcher Ernährung gernernte Eiweiß in seiner Zusammensetzung geprüft worden ist. Diese Lücke wäre auszufüllen. Vielleicht ergeben sich da doch noch interessante Aufschlüsse über die Entstehung der einzelnen Aminosäuren. Geben wir aber einmal die verwickelte Zusammensetzung des bei einfacher Ernährung entstandenen Eiweißes der Kleinwesen zu, so müssen wir wieder nach den Wegen fragen, auf denen aus den einzelnen Aminosäuren alle übrigen sich bilden. Findet dabei nur immer eine in ihrer Ausdehnung möglichst beschränkte Umwandlung der nährenden Aminosäure statt, oder wird diese regelmäßig erst tief gespalten — z. B. nach den Gleichungen, die wir in § 168—174 kennen gelernt — um dann in ihren Bruchstücken dem Aufbau zu dienen? Wir können darauf vorläufig keine Antwort geben, wenn auch vielleicht die Erfahrungen, die F. Ehrlich jüngst bei der Ernährung der Hefe durch Aminosäuren gemacht hat (§ 173), für den zweiten Bildungsweg sprechen.

Sind die Aminosäuren erst gebildet, so erfolgt nach der neueren, insbesondere durch E. Fischers Arbeiten begründeten Auffassung ihre weitere Zusammensetzung einfach in der Weise, daß sie sich paarweise mit ihren Karboxyl- und Amidogruppen unter Austritt von Wasser verkuppeln, — eine Umkehrung des Hydratisierungsprozesses, den wir unter dem Namen der Peptonisierung kennen (S. 698). Die dazu nötige Energie scheint keine erhebliche, die Hauptarbeit vielmehr schon mit der Bildung der Aminosäuren selbst geleistet zu sein. Versuchen wir diese letztere zu berechnen, so erhalten wir auf den ersten Blick ein merkwürdiges Ergebnis. Wie unsere Gleichungen 1—5 zeigen, verläuft die Bildung der Aminosäuren aus Zucker und Ammoniak meist unter Entwicklung von Wärme und nur die des Leuzins unter Bindung von solcher. Das Schlussergebnis würde also davon abhängen, in welchem Mengenverhältnis die Aminosäuren in das Eiweißmolekül eintreten. Wenn man so folgern wollte, würde man aber einen Fehler begehen: so wie sie sind, geben uns die Formeln überhaupt kein völlig zutreffendes Bild über die energetischen Verhältnisse der Aminosäurenbildung, weil hier die Entwicklung von Wasserstoff

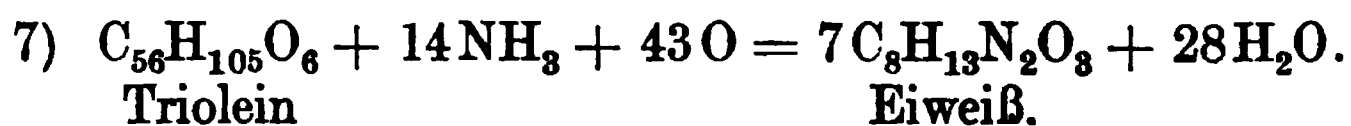
vorausgesetzt wird, die in Wirklichkeit bei der Assimilation nicht zu beobachten ist. Um eine richtige Vorstellung zu bekommen, gehen wir daher besser von einer der empirischen Eiweißformeln aus und suchen uns die Bildung des Eiweißes aus Zucker und Ammoniak in ähnlicher Weise zurechtzulegen, wie es in unseren obigen Gleichungen geschehen ist. Wir sehen dann, daß wir einen Reduktionsvorgang vor uns haben, der, wie zu erwarten, unter Wärmebindung verläuft. Er ist nämlich¹⁾:



Um ein Milligramm-Molekül (180 mg) Zucker in Eiweiß (139 mg) zu verwandeln, bedarf es also 25,5 mg Ammoniak und einer Energie von ca. 31 Kal., oder um 1 Milligramm Eiweiß zu erzeugen, sind nötig 1,3 mg Zucker, 0,18 mg Ammoniak und 0,22 Kal., d. h. eine Wärmemenge, die rechnerisch durch vollständige Oxydation von etwa 0,07 g Zucker oder durch alkoholische Vergärung von noch nicht 2 g Zucker erzeugt wird (vgl. § 227). Die Ausnützungsversuche, die wir später ausführlich besprechen werden (§ 232 ff.), zeigen, daß tatsächlich selbst im günstigsten Falle von den Kleinwesen sehr viel mehr Nährstoff verbraucht bzw. Energie erzeugt wird, als zum Aufbau ihrer Körpersubstanz nötig wäre.

Ähnliche Zahlen, wie wir hier für die Ernährung mit Zucker ausgerechnet haben, ließen sich feststellen für die übrigen Arten der Ernährung, z. B. mit leichter Mühe für die Essig- und Milchsäure, da sie dieselbe Zusammensetzung wie der Traubenzucker haben und durch bekannte Umsetzungen aus ihm hervorgehen.

Wir wollen als besonders interessant hier nur den Fall herausgreifen, daß als einzige Kohlenstoffquelle Fette zur Verfügung stehen. Die Bildung von Eiweiß scheint möglich auf Grund folgender Gleichung²⁾:



Zum Unterschied von unserer Gleichung 6 sieht man bei dieser Synthese den Sauerstoff eingreifen. Der Aufbau des Eiweißes aus

1) Wir haben die einfachste Eiweißformel und den Stohmannschen Wert für die Verbrennungswärme des Eiweißes (5711) gewählt. Auch wenn man die verwickelte Stohmannsche Durchschnittsformel



benutzt, erhält man nicht wesentlich andere Zahlen.

2) Die Formel des Trioleins lautet eigentlich $\text{C}_{54}\text{H}_{104}\text{O}_6$, wir haben sie der leichteren Rechnung wegen etwas verändert.

Fett ist also keine Reduktion, sondern eine Oxydation; wir beobachten sie in der Tat nur bei strengen Aërobiern, z. B. Schimmelpilzen. Daraus folgt schon, daß sie keinen Energieaufwand erfordert, sondern selbst Wärme, und zwar in nicht unerheblicher Menge, entbindet. Führen wir die Rechnung aus, so finden wir, daß zum Aufbau von 1 mg Eiweiß etwa 0,67 mg Fett (Triolein), 0,18 mg Ammoniak und 0,53 mg Sauerstoff erforderlich ist, wobei 1,3 Kal. frei werden. Auch hier werden wir sehen (§ 232), daß die Mikroorganismen tatsächlich sehr viel mehr Substanz verbrauchen und Energie erzeugen.

Die im vorstehenden gegebene Darstellung der Energieverhältnisse bei der Eiweißbildung bleibt gültig, obwohl wir nichts näheres über den Weg wissen, der dabei eingeschlagen wird. Die Rätsel, die da noch zu lösen sind, erscheinen verständlicherweise immer größer, je mehr wir versuchen, in den Aufbau des eigentlichen Protoplasmas einzudringen. Wenn wir uns selbst das Eiweißmolekül aus seinen zahlreichen Kernen, den Aminosäuren, aufgebaut denken, so haben wir damit ja noch nicht das „lebende“ oder „natürliche“ Eiweiß in Händen. Die frühere Anschauung, die namentlich Pflüger¹⁾ vertrat, daß dieses lebende Eiweiß in seiner Konstitution vollständig abweiche von dem toten, das wir allein der Analyse unterwerfen, ist freilich nach unseren heutigen Kenntnissen nicht mehr berechtigt. An die wesentliche Rolle, die die labile Zyangruppe in dem lebenden Eiweiß spielen sollte, kann man jetzt kaum mehr glauben, wo wir wissen, daß der Harnstoff durchaus kein notwendiges und ursprüngliches Produkt des Stoffwechsels ist. Fehlt er doch bei den Mikroorganismen anscheinend ganz, und entsteht er doch auch bei den höheren Tieren erst durch Synthese aus dem kohlensauren Ammoniak. Auf der anderen Seite hat uns die fortschreitende Forschung, insbesondere das Studium der Gärungs- und Imunitäterscheinungen, mit so vielen merkwürdigen Eigenschaften des lebenden Eiweißes bekannt gemacht, daß wir daraus auf eine überaus verwickelte Struktur schließen müssen²⁾. Mit den Aminosäuren ist es allein sicher nicht getan, sie bilden wohl nur das Gerüst, an das sich die übrigen besonders lebenswichtigen „Seitenketten“ angliedern. Das Schlimme ist aber, daß wir gerade von der chemischen Natur und Bildungsweise derselben, zu denen Enzyme (Kap. XIV) und andere „Hilfsstoffe“ (Kap. XVI u. XVII) gehören, nichts wissen.

1) Pflügers Archiv 10, 1875.

2) Vgl. dazu § 67 u. 68.

Aus dieser Erkenntnis folgt, daß auch die fertigen Eiweißstoffe, seien sie nun „natürlich“ oder „denaturiert“, wenn sie den Organismen in der Nahrung dargeboten werden, erst assimiliert, d. h. in bestimmter Weise umgewandelt werden müssen, ehe sie in dem Protoplasma aufgehen¹⁾. Vielleicht besteht diese Veränderung in einer Synthese der oben erwähnten eigenen Seitenketten mit dem (denaturierten) Eiweißskelett der Nahrung.

Daß große Energieleistungen mit dem Übergang des Eiweißes aus dem „toten“ in das „lebende“ Eiweiß verbunden sein sollten, dafür haben wir keine Unterlage. Diejenigen, für die das Leben eine besondere Kraft, z. B. ein eigentümlicher Schwingungszustand der Atome ist, könnten es natürlich annehmen.

§ 232. Stoff- und Kraftwechselrechnung. Ausnützung und Verbrauch der Nahrung bei Schimmelpilzen. Kennt man die sämtlichen Stoffwechselvorgänge im Leben der Kleinwesen nach ihrer Beschaffenheit und Größe, so ist es ein leichtes, auch eine Rechnung über den Stoffansatz und den Stoffverbrauch im Verhältnis zu den dargebotenen Nahrungsmengen, eine sogenannte Bilanz des Stoffwechsels aufzustellen. Daraus ist dann auch der Kraftwechsel zu berechnen, wenn man nicht vorzieht, ihn unmittelbar auf thermischem Wege zu bestimmen. Bisher ist man nur in wenigen Fällen diesem Ziele einigermaßen näher gekommen. Indessen haben wir doch auch ohne genaue Kenntnis der Einzelheiten des Stoffwechsels die Möglichkeit, uns ein ungefähres Bild von seinen Endergebnissen auf verhältnismäßig einfache Weise zu verschaffen, indem wir in der auf dem Nährboden entstandenen „Ernte“ der Kleinwesen, dem Nährbodenrest und dem unbenutzten Nährboden das Trockengewicht oder die wesentlichen Elemente, wie z. B. den Stickstoff, oder besonders wichtige oder leicht bestimmbare unverbrauchte Bestandteile der Nahrung, wie z. B. den Zucker, und deren Zersetzungsprodukte, z. B. die Milchsäure und den Alkohol, oder aber den gesamten Verbrennungswert feststellen und zur Ergänzung schon während der Züchtung den Gaswechsel, z. B. die Sauerstoffaufnahme und Kohlensäureentwicklung (§ 220 u. 221) und die Wärmeabgabe (§ 237) verfolgen.

Die auf dem einen oder anderen Wege erhaltenen Stoffwechselbilanzen sollen im folgenden besprochen werden. Wenn wir die in dem ursprünglichen „Nährboden“ enthaltenen Stoffe oder Spannkraft mit n , die in der Mikroorganismenernte — dem „Ansatz“ —

1) Wir sehen hier von der noch nicht für alle Fälle entschiedenen Streitfrage ab, ob das Nahrungseiweiß vor der Assimilation erst in die Eiweißkerne (Aminosäuren) gespalten werden muß, oder ob es als solches aufgenommen wird.

enthaltenen mit a , die außerdem im Stoffwechsel verbrauchten — den „Verbrauch“ im engeren Sinne — mit v und die Summe von Ansatz und Verbrauch, den „Umsatz“ (oder Gesamtverbrauch) mit u bezeichnen, ergibt uns das Verhältnis $\frac{a}{n}$ den „Ausnützungskoeffizienten“

(kurz Ausnützung oder Ausbeute), das Verhältnis $\frac{a}{u}$ den „Verbrauchs“- oder „ökonomischen Koeffizienten“ (Pfeffer) und der Quotient von beiden $\frac{u}{n}$ den „Umsatzkoeffizienten“.

Grundlegende Experimente über Ausnützung des Nährbodens durch Schimmelpilze verdanken wir Raulin (S. 89): er konnte auf seiner Nährlösung im günstigsten Falle etwa 33% der Nährstoffe im Trockengewicht des *Aspergillus niger* wiedererhalten. Wenn die Nährfähigkeit der Lösung durch Weglassen irgendeines Bestandteiles herabgesetzt wurde, sank auch die Ernte, wie wir gesehen haben, teilweise auf ein geringstes Maß. Sobald die Dichte des Hauptnährstoffes, des Zuckers, geändert wurde, konnte allerdings innerhalb gewisser Grenzen eine bedeutende Steigerung des absoluten Erntegewichts bewirkt werden, die Ausnützung fiel aber dabei um ein bedeutendes. So betrug die Ernte in einem Versuch mit 2750 g Wasser und 8 g Nährsalzen¹⁾ bei verschiedenem Zuckergehalt:

0 g Zucker und 8 g Nährsalze ergaben					0,27 Trockengewicht des Pilzes			
10 g	„	„	8 g	„	„	3,5	„	„
20 g	„	„	8 g	„	„	7,3	„	„
40 g	„	„	8 g	„	„	13,0	„	„
60 g	„	„	8 g	„	„	16,9	„	„
80 g	„	„	8 g	„	„	19,9	„	„
120 g	„	„	8 g	„	„	23,2	„	„
160 g	„	„	8 g	„	„	24,5	„	„
320 g	„	„	8 g	„	„	28,2	„	„
640 g	„	„	8 g	„	„	28,4	„	„
2260 g	„	„	8 g	„	„	24,7	„	„
7400 g	„	„	8 g	„	„	7,2	„	„

Hier war also schon bei 40 g (1,4%) Zuckergehalt die höchste Ausnützung mit $\frac{13}{48} = 27,2\%$ erreicht oder, wenn man die Ernte nur in Be-

1) Einschließlich etwas freier Weinsäure (3,5 Ammonnitrat, 3,0 Weinsäure, 0,6 Ammonphosphat und Kaliumkarbonat, 0,5 Magnesiumkarbonat, 0,3 Ammonsulfat, je 0,1 Eisenzitrat und Zinksulfat).

ziehung setzt zum Zucker, mit $\frac{13}{40} = 32,5\%$. Bei geringerer oder stärkerer Dichte des Zuckers sank die Ausnützung ziemlich schnell, betrug z. B. nur noch 20% bei 10 g (0,4%) und 120 g (4%) Zucker und 9% bei 320 g (10%) Zucker. Eine wesentlich höhere Ausbeute zu erzielen glückte weder R a u l i n noch späteren Untersuchern, insbesondere auch nicht C z a p e k (vgl. S. 91), der ähnliche Versuche mit demselben Pilze und Hunderten verschiedener organischer Stoffe anstellte. Im Gegenteil erreichte dieser Forscher im besten Falle nur eine Ausnützung von ca. 30%, und zwar mit Nährlösungen, die in 1000 g Wasser 0,5 Magnesiumsulfat, 1,0 Kaliumbiphosphat, 0,5 Kaliumchlorid, 0,01 Ferrosulfat, 30,0 Zucker, 10,0 Alanin enthielten. Das Alanin konnte fast mit gleichem Erfolg durch äpfelsaures, weinsaures oder milchsaures Ammon oder Asparagin ersetzt werden. Wurde Zucker durch eine andere Kohlenstoffverbindung ersetzt, so wurden die Ergebnisse nicht besser. Nur in wenigen Fällen stellte R a u l i n die Menge der v e r b r a u c h t e n Substanz durch Untersuchung der Nährlösung fest. So fand er in 9 Versuchen, daß (nach dem Ergebnis der Reduktion von Fehlingscher Lösung) 2—2,5 Teile Zucker auf je 1 Teil neugebildeter Pilzsubstanz verschwunden waren. Das gibt einen Verbrauchskoeffizienten von 50—40%, oder wenn man die übrigen Nährstoffe noch mit $\frac{1}{5}$ des Zuckergewichts hinzurechnet, einen solchen von 41—33%. Mit anderen Worten, das Leben der Schimmelpilze verbraucht — unter günstigen Bedingungen — anderthalb bis zweimal so viel Nährstoffe, als zum Aufbau der Zellen allein nötig ist. Wir werden im Laufe dieser Erörterungen sehen, daß das eine sehr wirtschaftliche Art der Stoffausnützung darstellt, die sonst nur selten erreicht wird. Wie man durch Division der beiden Quotienten erfährt, erschöpft auch der Umsatz der Pilze fast den gesamten Nährstoff-(Zucker-)Vorrat, allerdings sehr wahrscheinlich nur unter den hier vorliegenden günstigen Bedingungen, nicht bei stärkerer oder schwächerer Dichte des Zuckers.

Ein besonderes Interesse bieten auch die Erfahrungen W e h m e r s (S. 91) am *Aspergillus niger*. In den günstigsten Zuckernährböden (3% Zucker mit Salmiak und Salzen) gezüchtet, ergab dieser Pilz eine Ausbeute von 28% des Zuckers. Wurde das salzsaure Ammon durch das salpetersaure ersetzt, so fiel die Ernte auf 20%. In dem ersten Fall wurde wahrscheinlich der Zucker vollständig zu Wasser und Kohlensäure oxydiert, im zweiten Fall zum größten Teil zu Oxalsäure. Die bei diesen Verbrennungen entwickelte Wärmemenge steht etwa im Verhältnis der Ausbeute

(vgl. S. 393). Wenn die Oxydation des Zuckers nur bis zur Zitronensäure oder gar zur Glykonsäure fortgeschritten wäre, würde man entsprechend geringere Erntegewichte erzielt haben (vgl. § 120 und 121). Außer Zuckernährböden prüfte W e h m e r auch einige andere, deren Ausbeute wir auf unserer Tafel S. 391 wiedergegeben haben. Man sieht daraus, daß Olivenöl und Glyzerin (mit salpetersaurem Ammon als Stickstoffquelle) noch größere Ernten ergeben können als Z u c k e r. Die A u s n ü t z u n g b e t r ä g t b e i m O l i v e n ö l m e h r a l s d i e H ä l f t e , e i n R e s u l t a t , w a s g a n z u n g e w ö h n l i c h i s t. Wenn man auch hier wieder den Wärmewert, den gleiche Teile der Nährstoffe bei ihrer Verbrennung ergeben, mit den Erntemengen vergleicht, so erhält man folgende Zahlen:

	Verbrennungswärme von 1,5 g Substanz	Pilzernte
Weinsäure	2618 Kal.	0,155 g
Zitronensäure	3717 „	0,240 g
Glykose	5614 „	0,278 g
Glyzerin	6468 „	0,475 g
Pepton	6750 „	0,162 g
Olivenöl.	13992 „	0,810 g

Es wächst also die Ernte ziemlich regelmäßig mit der Verbrennungswärme der zur Nahrung dienenden Verbindungen. Natürlich gilt das nur unter der Voraussetzung, daß die Verbrennung der Nährstoffe eine vollständige ist, was hier einigermaßen erfüllt zu sein scheint. Nur das Pepton macht eine auffällige Ausnahme und fällt durch die geringe Ausbeute, die es liefert, aus der Reihe der übrigen Stoffe heraus. Von der Glykose sollte man eine etwas höhere Pilzernte erwarten. Dieselbe erklärt sich wenigstens teilweise daraus, daß Zucker bei den hier verfügbaren Stickstoffquellen nur unvollkommen verbraucht wird.

Die Tatsachen, die L a b o r d e ¹⁾ bei Ernährungsversuchen mit einem anderen Schimmelpilz, der Eurotiosis Gayoni, festgestellt, sprechen in demselben Sinne. Sie zeigen gleichzeitig, daß zwischen der Schnelligkeit der Entwicklung und dem Grade der Ausnützung der Nährstoffe keine bestimmte Beziehung zu bestehen braucht. In der folgenden, von uns etwas abgekürzten Tafel ist für eine Anzahl von stickstofffreien

1) Annal. Pasteur 1897. 23.

Nahrungsstoffen, die dem Pilze in einer Menge von 10 g und einer Dichte von 5% neben den gleichen Salzen bei reichlichem Sauerstoffzutritt dargeboten wurden, die gesamte und die (durchschnittliche) tägliche Ausbeute an Trockensubstanz zusammengestellt:

	gesamte Pilzausbeute in % des Nährstoffs:	tägliche in % des	Die größte Ausbeute wird erreicht in
Alkohol	44%	3,7%	12 Tagen
Glyzerin	31%	1,5%	20 „
Fruktose	30%	5,0%	6 „
Maltose	30%	3,3%	9 „
Glykose	29%	4,8%	6 „
Mannit	29%	4,8%	6 „
Milchsäure	26%	2,2%	12 „
Bernsteinsäure	25%	2,1%	12 „
Stärke	25%	1,2%	20 „

Hier ist, wie in den Wehmerschen Versuchen, die Ausnützung der Nährstoffe am größten (44%) bei dem Stoff, der die größte Verbrennungswärme hat, dem Alkohol (7068 Kal. im g), eine mittlere (ca. 30%) bei den Zuckerarten Mannit und Glyzerin (3743 und 3959 Kal.) und am kleinsten (25%) bei der Bernsteinsäure (3006 Kal.). Daß die Ausbeute bei Ernährung mit Stärke nicht höher ist, liegt wohl an ihrer schwierigeren Verdauung.

Den von Laborde gefundenen Unterschied in der Ausnützung des Alkohols und des Zuckers durch die Eurotiosis Gayoni hat Mazé¹⁾ bestätigt. Seine Untersuchungen lehren auch, daß die Pilzausbeute im Verhältnis zum Nahrungsumsatz in den früheren Entwicklungsstufen eine größere ist als in den späteren. So betrug der Verbrauchskoeffizient einer zweitägigen Kultur mit Zucker 38%, in einer viertägigen 32%, in einer sechstägigen 27%, der in einer fünftägigen Kultur mit Alkohol 80%, in einer siebentägigen 53%²⁾.

Die Versuche Nikolskis³⁾, in denen nicht nur das Trockengewicht des Pilzes (*Amylomyces* β) bei verschiedener Ernährung, sondern auch dessen Stickstoffgehalt (vgl. S. 60), ferner der Umsatz,

1) Annal. Pasteur 1902. 364.
2) Von den Veränderungen in der Zusammensetzung des Myzels haben wir S. 61 gesprochen.
3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 558, 1904.

und zwar in allen Stadien der Entwicklung bestimmt wurde, sind allerdings gerade im entgegengesetzten Sinne ausgefallen. Wir geben im folgenden einen Versuch mit Glykose (6 g in 100 g Raulin-scher Flüssigkeit) etwas abgekürzt wieder:

	1 Pilzernte	2 Pilzstick- stoff	3 Zucker- umsatz	4 Pilz- zuwachs	5 Verhältnis ¹⁾ v. Spalte 3 : 1
2. Tag	0,011	0,002	0,544	0,011	50,3
4. „	0,170	0,013	1,056	0,159	6,2
6. „	0,365	0,034	2,897	0,195	8,0
8. „	0,762	0,059	3,403	0,397	4,4
10. „	1,240	0,103	4,012	0,478	3,2
12. „	1,716	0,084	5,705	0,476	3,3
14. „	1,842	0,075	5,957	0,126	3,2

Deutlich ist hier das beständige, aber in den einzelnen Perioden ungleichmäßige Wachstum des Pilzes und der vorzeitige Stillstand des Stickstoffzuwachses. Die Ausnützung beträgt am Schluß des Versuchs, wenn man nur den Zucker berücksichtigt, 31%, ebenso groß ist der ökonomische Koeffizient, da fast sämtlicher Zucker umgesetzt ist. In den früheren Entwicklungsstadien ist der letztere aber kleiner, zu Anfang sogar nur 2%. Auch bei der Ernährung mit Maltose, Saccharose und Fruktose zeigte sich dieselbe Erscheinung, die wir wohl dadurch erklären müssen, daß dieser Pilz zunächst den ihm dargebotenen Zucker nicht vollständig verbrennt. Bei den sehr großen Unterschieden lohnte es sich wohl, näher auf die Zersetzungsprodukte einzugehen. Im übrigen hatten die Versuche N i k o l s k i s das wichtige Ergebnis, daß der *Amylomyces* nur die drei erstgenannten Zuckerarten und das Inulin vollständig verbrauchte und entsprechende Ernten darauf entwickelte, die Fruktose, Galaktose, Raffinose, das Dextrin und die Laktose aber nur zu kleinen Teilen zersetzte und namentlich auf dem letztgenannten Zucker unverhältnismäßig kleine Ernten (also einen sehr niedrigen Verbrauchskoeffizienten) ergab. Man wird auch hier wieder annehmen dürfen, daß die Verbrennung der Kohlenhydrate in diesen Fällen weit unvollkommener war, als in den ersten. Hand in Hand ging damit ein höherer Stickstoffgehalt. Wir haben das schon früher erörtert (S. 60).

Der K r a f t w e c h s e l wurde in allen diesen Ernährungsversuchen mit Schimmelpilzen nicht unmittelbar bestimmt, wir können ihn aber

1) Durch Umkehrung erhält man unseren Verbrauchskoeffizienten.

in seinen Grundzügen durch Rechnung feststellen. Nehmen wir an, daß in den günstigsten Versuchen der genannten Forscher die Verbrennung der verbrauchten Nährstoffe eine vollständige war, so daß die Verbrennungswärme der Pilze mit der von R u b n e r¹⁾ gefundenen des sporenhaltigen *Penicillium glaucum* (5393) annähernd übereinstimmte, so hätten wir nach R a u l i n, wenn wir von den übrigen Nährstoffen außer dem Zucker absehen, einen thermischen Gesamtumsatz von $2-2,5 \times 3700$ Kal. oder 7400—9250 Kal. auf einen Ansatz von 5339 Kal., oder, wenn wir, um diesen Fehler auszugleichen, die größere Zahl wählen, einen thermischen Verbrauchskoeffizienten von $5359 : 9250 =$ etwa 58%. Auch der Ausnützungskoeffizient ist ähnlich hoch. Aus den Versuchen W e h m e r s und L a b o r d e s können wir nur den letzteren Koeffizienten einigermaßen sicher bestimmen, da wir nicht wissen, wieviel von den Nährstoffen beim Wachstum der Pilze verbraucht worden ist. Die thermische Ausnützung beträgt

Glykose	(W e h m e r)	26%
Glyzerin	(„)	39%
Olivenöl	(„)	31%
Alkohol	(L a b o r d e)	33%

Da die Verbrauchskoeffizienten mindestens ebenso hoch sein müssen, sieht man, daß wir uns der obigen aus den R a u l i n s c h e n Versuchen erhaltenen Zahl mehr oder weniger nähern. Das gilt auch von den Versuchen N i k o l s k i s mit Trauben-, Rohr-, Malzzucker und Dextrin. Die aus den R u b n e r s c h e n Versuchen mit Hefe (§ 233) gewonnenen Erfahrungen sprechen ebenfalls dafür, daß der thermische Verbrauchskoeffizient bei dem rein aëroben Wachstum der Pilze sehr hoch ist, diese Lebewesen also auch, was den Energieverbrauch angeht, verhältnismäßig haushälterisch mit ihrer Nahrung umgehen. Auch die Bestimmungen des von den Pilzen aufgenommenen Sauerstoff- und der abgegebenen Kohlensäuremengen, namentlich die sorgfältige Analyse M a z é s, auf die wir besonders verweisen wollen (§ 220), stimmen damit durchaus überein. Wenn die Pilze ebensoviel oder andert-halbmal soviel Sauerstoff zu verbrauchen pflegen, wie sie in trockenem Zustande wiegen, so ist daraus unter Zuhilfenahme unserer Tabelle auf S. 694 und unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Nährstoffe selbst im großen und ganzen den zum A u f b a u des Leibes nötigen Sauerstoff liefern, zu schlie-

1) Arch. f. Hyg. 48. 268.

ßen, daß die Pilze annähernd ebensoviel Kalorien nach außen abgeben, wie sie in ihrem Leibe aufspeichern.

Wahrscheinlich gilt diese Regel übrigens nur für die günstigsten Ernährungsbedingungen. Wenn sie ungünstiger werden, sinkt wohl nicht nur die Ausbeute, sondern steigt auch verhältnismäßig der Verbrauch von Nährstoffen und Energie. Beispiele für das erstere Verhältnis haben wir namentlich bei der Oxalsäuregärung (§ 122) kennen gelernt; Angaben in letzterer Beziehung fehlen aber für die Schimmelpilze, während sie für die Hefe geliefert sind. Daß ein Verbrauch von Stoffen durch Pilze auch ohne Wachstum möglich ist, lehrten die Zitronensäuregärung (S. 388) und die Sauerstoffaufnahme und Kohlensäurebildung im (teilweisen) Hungerzustande (§ 226). Es geht dabei aber nicht ohne Schädigung der Körpersubstanz ab (Selbstverbrennung, Selbstvergärung und Selbstverdauung).

§ 233. Stoff- und Kraftwechsel bei Hefepilzen. Um den Verbrauch der Nahrung durch Hefepilze kennen zu lernen, haben wir uns zunächst an die Arbeiten von Pasteur¹⁾ zu halten. Sie ergaben das wichtige Resultat, daß je nachdem der Hefe Sauerstoff mehr oder weniger reichlich zur Verfügung steht, das Verhältnis der erzeugten zur umgesetzten Substanz ein sehr verschiedenes ist. So fand Pasteur in 200 ccm einer Nährsalz-Rohrzuckerlösung, die er in einer ganz dünnen Schicht von 2—3 mm Dicke in offener Schale ausgebreitet und mit einer Spur Hefe besät hatte, nach einem Tage 24 mg trockene Hefe auf 98 mg zersetzten Zuckers. Das ergibt einen Verbrauchskoeffizienten von $1 : 4 = 25\%$, immerhin also einen wesentlich niedrigeren Wert als denjenigen, den Raulin und Czapek (§ 232) für die in gleicher Weise aërob gewachsenen Schimmelpilze gefunden hatten. In einem zweiten Versuch, der ähnlich angeordnet, aber erst nach 2 Tagen unterbrochen wurde, kamen auf 127 mg Hefegewicht 1040 mg verschwundenen Zuckers. Hier beträgt also der Verbrauch $1 : 8 = 12,5\%$. Pasteur erklärt das dadurch, daß der Sauerstoffzutritt hier nicht mehr so unbeschränkt war, weil die einmal gebildete Hefe als Deckschicht wirkte. Noch ungünstiger wurde das Verhältnis, wenn die Nährlösung nicht in offener Schale, sondern in einem großen, aber fast völlig geschlossenen Kolben — übrigens auch noch in dünner Schicht, aufgestellt wurde. Auf 10 g verbrauchten Zuckers wuchsen 0,44 g Hefe, entsprechend einer Ausnützung von

1) Etudes sur la bière, 1876.

4,4%. Offenbar ist hier der Luftzutritt schon stark¹ beschränkt gewesen, weil die durch die Hefe gebildete Kohlensäure sich über der Flüssigkeit anhäufte, ähnlich wie wir es in einem Gärkeller sehen. Wurde jetzt die Höhe der Nährschicht gesteigert, so fiel der Verbrauchskoeffizient auf $1 : 75 = 1,3\%$. Erfüllte die Zuckerlösung den Kolben vollständig, wurde also der Luftzutritt so gut wie ganz aufgehoben, so sank der Koeffizient auf $1 : 150 = 0,67\%$ und das Wachstum der Hefe war dabei so verlangsamt, daß 12 Tage nötig waren, um aus 3 Liter Zuckerlösung eine Ernte von 2,25 g trockener Hefe zu erhalten. Wenn man die Sorgfalt, die man auf den Sauerstoffabschluß verwendet, weiter steigert, so wird die Entwicklung der Hefe noch langsamer, und die Ernte beträgt nach 3 Monaten nur 0,255 g auf 45 g verbrauchten Zuckers, der Verbrauchskoeffizient also $1 : 176 = 0,57\%$. Eine weitere Steigerung der anaëroben Bedingungen glückte Coch in¹). Das Wachstum der Hefe hörte dann aber überhaupt auf und damit auch der Zuckerverbrauch.

Diese Pasteurschen Versuche sind im großen und ganzen vollständig bestätigt worden durch die neueren von H. Buchner und Rapp²).

Wir geben zum Beweis Tabelle XV ihrer Arbeit in etwas veränderter Zusammenstellung und mit abgekürzten Zahlen hier wieder. Es wurde die Hefe zunächst, um dem Sauerstoff möglichst reichliche Gelegenheit zum Eingreifen zu geben, auf der Oberfläche von Bierwürzelatine mit 10% Traubenzucker gezüchtet, und zwar in großen zylindrischen Flaschen von 5 Litern Inhalt, auf deren Wänden der Nährboden in dünner Schicht verteilt war. In dem Hals der Flasche steckte ein Kautschukpfropfen, durch dessen Bohrungen eine längere und eine kürzere Glasröhre geführt war. Die Flaschen wurden nach Beschickung mit Hefe im Wärmeschränk bei 24° aufgestellt und Luft, die von Kohlensäure befreit und mit Wasser gesättigt war, mittelst eines Gasometers beständig hindurchgeleitet. Hinter dem Kolben wurde ein Trocken- und ein Kohlensäureabsorptionsapparat eingeschaltet zur Messung der Kohlensäureproduktion. Eine zweite ganz gleich behandelte Kulturflasche war zum Auffangen des verdunsteten Alkohols mit Wasservorlagen versehen. Bei Beendigung des Versuchs — nach 5 Tagen — wurden die Kulturen verflüssigt und der darin vorhandene Alkohol mit Wasserdampf auf dem Sandbade überdestilliert. Die Flasche, die zur Kohlensäureabsorption diente, wurde auch zur Bestimmung des Hefegewichts benutzt. Diese Anordnung gestattete also eine genaue Feststellung der Kohlensäure, des Alkohols und der Hefemenge. Zum Vergleich der Wachstumsverhältnisse, die bei beschränktem Sauerstoffzutritt bestehen, wurden Erlenmeyerkolben mit der gleichen Menge 10prozentiger Traubenzuckerbierwürze (ohne Gelatine) und der gleichen Aussaat versehen, während der Versuchszeit geschlossen gehalten; die in ihnen gebildete Kohlensäure wurde nachher durch trockene Luft verdrängt und gewogen.

1) Annal. chim. et phys. 1880.

2) Zeitschr. f. Biol. 37.

Das Ergebnis der Versuche war folgendes:

T a f e l A.

		Kohlen- säure in g	Alkohol in g	Hefe- gewicht in g	Verhältnis d. Hefe zum vergorenen Zucker ¹⁾
Luft wird be- ständig durch- geleitet	50 g Gelatine	4,9	2,0	0,61	1 : 6,6
	100 g „	7,8	4,4	0,87	1 : 10,0
	200 g „	16,9	10,0	1,40	1 : 14,3
Kolben bleibt geschlossen, Luftzutritt be- schränkt	200 g Flüssigkeit	14,4	12,4	0,75	1 : 38,5
	100 g „	7,7	6,7	0,32	1 : 42,6
	50 g „	3,9	3,7	0,09	1 : 80

Da in vorstehender Tabelle verschiedene Mengen von Nährböden an-
gewandt sind, so sind die absoluten Zahlen nicht unmittelbar vergleich-
bar, sie werden es, wenn sie mit 4 (Zeile 1 und 6) bzw. mit 2 (Zeile 2 und 5)
multipliziert werden (Taf. B). Außerdem haben wir in Taf. B noch zwei
neue Spalten hinzugefügt, die das Verhältnis der Hefenernte zu dem ver-
schwundenen und zu dem ursprünglich vorhandenen Nährstoff, also den
Verbrauchs- und Ausnützungskoeffizienten, angeben²⁾. Wir erhalten dann:

T a f e l B.

	Kohlen- säure in g	Alkohol in g	Hefe- gewicht in g	Verhältnis der Hefe		
				zum ver- gorenen Zucker	zum ver- brauchten Nähr- material	zum vor- handenen Nähr- material
1.	19,6	8,0	2,44	1 : 7	1 : 11	1 : 20
2.	15,6	8,8	1,74	1 : 10	1 : 14	1 : 29
3.	16,9	10,0	1,40	1 : 14	1 : 19	1 : 36
4.	14,4	12,4	0,75	1 : 39	1 : 40	1 : 67
5.	15,4	13,4	0,64	1 : 43	1 : 46	1 : 78
6.	15,6	14,8	0,36	1 : 80	1 : 81	1 : 138

1) Der vergorene Zucker wurde aus dem Alkoholgewicht berechnet.

2) Leider geben B u c h n e r und R a p p diese Zahlen nicht. Ich
habe den Verbrauchskoeffizienten berechnet, indem ich zunächst von der
gesamten Kohlensäuremenge (Spalte 1) diejenigen abgezogen habe, die
bei der Gärung neben dem Alkohol entsteht (Alkohol : Kohlensäure
= 46,4 : 48,3 nach P a s t e u r s Bestimmung). Wenn man annimmt,
daß sie der vollständigen Verbrennung des Zuckers entstammt, so würde
man aus ihr die Menge dieses Zuckers erhalten, indem man mit $\frac{2}{3}$ multi-
pliziert. In diese Zahl wurde dann noch die Menge der Hefe hineinge-
rechnet. Das Verhältnis der Hefemenge zu der Summe aus vergorenem,
oxydiertem Zucker und Hefe wurde dann als Umsatz betrachtet. Die
Rechnung wurde abgekürzt, weil ja an Genauigkeit überhaupt nicht zu

Das Gesetz, das sich aus diesen Zahlen ergibt, ist nicht zu verkennen: die Alkoholmenge steigt langsam auf fast das Doppelte, während das Hefegewicht schnell auf den siebenten Teilsinkt. Daß daran die fortschreitende Anaërobiose schuld ist, kann kaum zweifelhaft bleiben. Der Gegensatz zwischen den Ergebnissen in Versuch 1—3, die bei Luftdurchleitung, und 4—6, die in geschlossenen Lufträumen vorgenommen wurden, liegt auf der Hand. Aber auch der Unterschied zwischen Versuch 1, 2 und 3 erklärt sich leicht, wenn man bedenkt, daß in Nr. 3 die Nährbodenschicht, die von dem Luftstrom bestrichen wurde, am dicksten, in Nr. 1 am dünnsten war, im letzteren die Sauerstoffwirkung also auch am größten sein mußte. Die Unterschiede zwischen Nr. 4—6 werden sich wesentlich auf ähnliche Weise erklären. Leider ist die Größe der für den Versuch benutzten geschlossenen Kölbchen nicht von den Verfassern angegeben worden, wir wissen also nicht, wie groß in jedem Einzelversuch die anfangs der Hefe zur Verfügung stehende Luftmenge gewesen ist. Jedenfalls entspricht der Verbrauch des Nährbodens durch die Hefe, der nach diesen Beobachtungen von B u c h n e r und R a p p zwischen 1 : 11 und 1 : 81 schwankt, je nachdem der Sauerstoff reichlichen oder beschränkten Zutritt hatte, ziemlich gut den älteren P a s t e u r'schen Angaben. Er bestätigt aber auch im wesentlichen die Theorie, die P a s t e u r zur Erklärung dieses Verhaltens aufgestellt. Nach P a s t e u r wächst die Hefe bei Sauerstoffzutritt üppig wie die Schimmelpilze auf Kosten des Traubenzuckers, durch dessen vollständige Oxydation sie auch die nötige Energie gewinnt; bei Sauerstoffmangel ist das Wachstum ein langsames und die zum Leben nötige Energie kann nicht durch Oxydation erzielt werden, sondern nur durch Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure, mit einem Worte, durch die Gärung. Da bei der Oxydation verhältnismäßig viel, bei der Gärung wenig Wärme erzeugt wird, muß bei aërober Entwicklung wenig, bei anaërober viel Zucker verbraucht werden. Das bestätigt Tafel B. Nur lehrt sie allerdings, daß entgegen der Ansicht Pasteurs auch bei aërobem Wachstum der Hefe die Gärung nicht völlig fehlt.

denken ist. Den Ausnützungskoeffizienten erhielt ich, indem ich die Hefemenge der Taf. B dividierte durch die Summe des vermutlichen Nährstoffgehalts der Bierwürze (15%) + 10% Traubenzucker — für 200 ccm Nährlösung also $30 + 20 = 50$ g. Dabei ließ ich des Vergleichs wegen die Gelatine, die ja von der Hefe wenig angegriffen wird und wesentlich nur als Unterlage dient, unberücksichtigt.

Daher haben B u c h n e r und R a p p so hohe Verbrauchskoeffizienten wie P a s t e u r nie erzielt. Vielleicht hätten sie das auch noch möglich gemacht, wenn sie die Hefekulturen frühzeitiger untersucht hätten. Man muß ja P a s t e u r darin recht geben, daß schon durch eine dünne Kulturschicht der Zutritt von Sauerstoff erschwert wird¹⁾.

Die Ausnützung des Nährbodens durch die Hefe im B r a u e r e i - g e w e r b e (§ 94) läßt sich etwa folgendermaßen berechnen. Es werden auf 100 Liter Würze etwa 2,5 Liter breiiger Hefe gewonnen. Nehmen wir einen Trockengehalt der Würze von 15% und der Hefe von 10% an, so wird die Ausnutzung 1 : 60 betragen. Da bei der Gärung aber etwa $\frac{2}{3}$ der Nährstoffe der Würze verbraucht werden, wird der Verbrauchskoeffizient gleich 1 : 40. Im Großbetriebe ähneln also die Ernährungsverhältnisse der Hefe denen im Versuch 4 obiger Tafel A und B.

In wünschenswerter Weise ergänzt werden diese Erfahrungen durch die k a l o r i m e t r i s c h e n Untersuchungen R u b n e r s²⁾ an Hefe (vgl. § 237). In einem seiner Versuche vermehrte sich die offenbar unter beschränktem Sauerstoffzutritt in Bierwürze wachsende Hefe von einem Anfangs-N-Gewicht von 2 mg binnen 4 Tagen bis zu einem Endgewicht von 42 mg, vergor dabei 25,7 g Maltose und erzeugte 3787 Kal. Man wird keinen großen Fehler begehen, wenn man die Ernte³⁾ auf 420 mg trockene Hefe, den stofflichen Verbrauchskoeffizienten auf $0,42 : 25,7 = 1 : 61$ und, da der Verbrennungswert der Hefe 2370 Kal. beträgt, den Wärmeverbrauchskoeffizienten auf $2370 : 3787 + 2370 = 1 : 2,6$ (38%) berechnet. Vier ganz ähnlich gestaltete Versuche R u b n e r s an wachsender Hefe, die sich nur dadurch unterschieden, daß das Wachstum wegen des ungleichen Gehalts der Nährlösungen an Bierwürze mehr oder weniger reichlich war, hatten entsprechende Ergebnisse. In dem ersten, in dem das

1) B u c h n e r und R a p p haben auffälligerweise auf denjenigen ihrer Versuche, der hier besprochen wurde, wenig Wert gelegt, obwohl er ihnen doch hätte nahelegen müssen, daß die Resultate P a s t e u r s gerade durch ihn eine entschiedene Bestätigung erfahren. In anderen Versuchen erhielten sie mittlere Resultate, die etwa denen der obigen Nr. 3 und 4 entsprachen. Andere Autoren wie P e d e r s e n und H a n s e n (Compt. rend. des Carlsberg Laboratoriums Kopenhagen I. Bd. 1878 und 1879), v a n L a e r (K o c h s Jahresber. 1893. 137), G i l t e y und A b e r s o n (ebenda 1894, 119), B e i j e r i n c k (Zentr. Bakt. 11. 73, 1892) bestätigen übrigens im wesentlichen die P a s t e u r s c h e Theorie (vgl. scheinbar entgegenstehende Resultate in § 91).

2) Arch. f. Hyg. 49. 393, 1904.

3) Die Ausnützung auf den Stickstoffgehalt des Nährbodens berechnet betrug 28%.

Wachstum ein üppiges war (172 mg N im Trockengewicht), betrug der Verbrauchskoeffizient an Stoffen 1 : 54, der an Wärme 1 : 23 (= 43%), in dem letzteren, wo nur 13 mg N an Hefe gewachsen waren, fiel der Verbrauchskoeffizient an Stoffen auf 1 : 141, der an Wärme auf 1 : 4,5 (= 22%). Das bedeutet also zunächst, daß der große Stoffverbrauch bei der Alkoholgärung mit einem verhältnismäßig weit kleineren Energieverbrauch einhergeht. Insofern war das ja vorherzusehen, als der Zucker durch die Gärung nicht völlig verbraucht, sondern nur in Bestandteile von zum Teil hoher Verbrennungswärme gespalten wird. Zweitens ergibt sich, daß der Stoff- und Wärmeverbrauch bei der Alkoholgärung verhältnismäßig um so höher steigt, je geringer das Hefewachstum, je stärker die Gärung ist. Ein genauer Vergleich des Energieverbrauchs bei dem aëroben Wachstum der Hefe- und Schimmelpilze ist leider nicht möglich, die Zahlen werden aber wohl in demselben Sinne sich bewegen (vgl. S. 714), da dem geringeren Stoffverbrauch bei den letzteren eine um so reichlichere Wärmeentbindung durch die vollständige Verbrennung der Nährstoffe entspricht.

Andere kalorimetrische Versuche Rubners sind deswegen bemerkenswert, weil hier die Hefe in großen Mengen auf reine Zuckerlösung ausgesät wurde, weswegen sie überhaupt nicht zum Wachstum kam, sondern im Gegenteil an Masse (Stickstoffgehalt) um 15—50% und an Zahl lebensfähiger Individuen bis auf wenige Prozente abnahm (S. 265 u. 266). Trotzdem wurde starke Gärung und Wärmeentwicklung erhalten: also auch die nicht wachsende Hefe verbraucht große Stoffmengen. Man wird das ihrem Gehalt an fertiger Zymase zuschreiben müssen. Es ist sehr wohl möglich, daß ähnliche Verhältnisse auch in Hefekulturen eintreten, sobald das Wachstum der Hefe zum Stillstand kommt. Dadurch wird natürlich der Stoffverbrauch und die Wärmeentwicklung erhöht ohne Zunahme der Ernte. Aus Rubners Versuchen ist zu ersehen, daß von der Hefe zu reiner Zuckerlösung etwa dreimal mehr, als in zuckerhaltiger Bierwürze in seinem ersten Versuch gewachsen war¹⁾, von Anfang an zugesetzt werden mußte, um ebenso viel Gärungswärme zu erzeugen, denn es wurden hier auf 1 g ursprüngliches Hefetrockengewicht etwa 2700 Kal., dort auf 1 g des Trockengewichts der Ernte etwa 9000 Kalorien entbunden.

1) Unter der Annahme, daß 5 g frischer Hefe 1,25 g trockener entsprechen.

§ 234. Stoff- und Kraftwechsel aërober Bakterien. Die Ausnützung der Nährstoffe durch Bakterien erreicht selten einen so hohen Grad, wie die durch Schimmelpilze (§ 232). Wahrscheinlich liegt das zum Teil daran, daß von ihnen gewöhnlich Stoffwechselprodukte gebildet werden, die ihnen selbst schädlich sind und ihr Wachstum frühzeitig zum Stehen bringen (§ 47). Schon der Augenschein lehrt das Übergewicht, das die Pilze in dieser Beziehung haben. Andererseits kommt häufig in Betracht das Gärvermögen vieler Bakterien, das auf die Zersetzung der Nährstoffe einen ähnlichen Einfluß ausübt, wie wir ihn bei den Hefepilzen (§ 233) kennen gelernt haben. Am größten ist noch die Ernte, die wir bei reinen Aërobiern erhalten; ausnahmsweise groß soll sie bei den „Eiweißbakterien“ Gerlachs und Vogels¹⁾ sein. Ihnen genügten z. B. 0,5 g Zucker, um den Stickstoff von 0,3 g Natriumnitrat in unlöslichen „Eiweißstickstoff“²⁾ umzuwandeln. Nehmen wir an, daß sie dabei auch den sämtlichen Zucker verbrauchten und daß ihr Körper im wesentlichen aus Eiweiß bestand so hätten wir eine Bakterienernte von ca. 0,3 g, also einen Verbrauchs- und Ausnutzungskoeffizienten von $0,3:0,5 + 0,3 = \text{ca. } 40\%$, d. h. sogar eine bessere Ausnutzung als wir sie gewöhnlich bei den Schimmelpilzen sehen. Die Energieberechnung zeigt aber, daß hier ein Fehler vorliegen muß, da der wenige nicht zum Aufbau des Eiweißes unmittelbar verbrauchte Zucker bei seiner Verbrennung nicht genügende Wärme entwickelt, um die chemische Arbeit, die bei dem Aufbau des Eiweißes und bei der Reduktion des Nitrats geleistet wird, aufzubringen. Weit geringere Zahlen erhält man in der Tat bei anderen aëroben Bakterien. So bestimmte Kappes³⁾ die Ausnützung seines Nährbodens, der einschließlich 1,5% Agar 4% Trockensubstanz enthielt, bei *Bac. xerosis* und *Bac. prodigiosus* und gleichzeitig bei dem Soorpilze (einer Hefeart) zu 0,33%, also, wenn wir den Agar selbst als unangreifbar unberücksichtigt lassen, zu etwa 10—14% der trockenen Nährstoffe. Cramer⁴⁾ fand dagegen für den Bazillus der Pneu-

1) Vgl. unsere Kritik S. 615.

2) Bestimmt durch Vergleich des Stickstoffgehalts der Kultur vor und nach dem Filtrieren durch ein Porzellanfilter.

3) Analyse der Massenkulturen einiger Spaltpilze usw. Dissertation Leipzig 1890.

4) Arch. f. Hyg. 16. 170. Cramer macht keine ausdrücklichen Angaben. Aber aus der Tabelle VIII auf S. 188 seiner Arbeit ersieht man, daß er auf 90 ccm Bouillon 17—35 mg Stickstoff in der Bakteriensubstanz fand. Da der N-Gehalt der Choleravibrionen ca. 10% beträgt und die Trockensubstanz der Sodabouillon auf ca. 3% angenommen werden kann, so erhält man die Zahlen im Text. Andere Angaben Cramers scheinen

monie, des Rhinoskleroms, den Pfeifferschen Kapselbazillus und ein Wasserbakterium, sämtlich üppig wachsende Mikroorganismen, auf der Oberfläche von Nähragar, der 3—8% Trockensubstanz enthielt, eine Ausnützung von nur 4,4—7,5%, für den Choleravibrio in Bouillon mit 3% Trockengehalt zwar eine solche von 6—12%¹⁾, aber auf der Uschinskylösung (mit 6% Trockensubstanz) sogar nur 1%²⁾.

Eigene Versuche mit Ruhr- und anderen Bazillen zeigten mir, daß sich auf Agarplatten mit 50 ccm Nähragar höchstens 4—500 mg Leibes-, d. h. 80—100 g trockene Substanz bilden. Die Ausnutzung beschränkt sich auf etwa 4%. Bei freiem Sauerstoffzutritt zu Bouillonkulturen (in ganz flachen Schichten) ergaben sich ähnliche Zahlen, bei mangelhaftem (in Röhrchen) zehnmal weniger (vgl. S. 132).

Um die Bakterien aus dem flüssigen Nährboden zu gewinnen, wurden teils die auf ihrer Oberfläche befindlichen Häutchen benutzt, teils das Zentrifugensediment, teils der Niederschlag, der durch essigsaures Eisen (R u b n e r ³⁾) oder Kochen mit Essigsäure erzeugt war.

Mit Hilfe der Eisenfällung, an die er dann aber Stickstoff- und Schwefelbestimmungen anschloß, untersuchte auch R u b n e r ⁴⁾ die Ausnutzung der Nährböden durch ein in Fleischextrakt besonders gut wachsendes Bakterium (Proteus). Nach 8 tägiger Kultur bei 36° fand er die Ausnutzung (in Prozenten):

	Bei 100facher Konzentration	Bei 50facher Konzentration	Bei 25facher Konzentration	Bei 12,5fach. Konzentration	
des Schwefels	38,95	28,95	29,28	10,80	100fache Konz. = 6% Fleisch- extrakt.
des Stickstoffs	15,29	12,07	8,00	5,60	

Daraus wäre zu schließen, daß die Ausbeute nicht bloß absolut, sondern auch relativ mit der Konzentration der Nährlösung stiege. Freilich erweckt die Bestim-

ihnen zu widersprechen, so führt die Berechnung der Zahlen aus Tab. III zu einer Ausnutzung von 20—25%. Hier muß ein Druckfehler vorliegen oder Verstellung des Kommas. Auch die Bemerkung auf S. 188, daß fast aller N des Nährmaterials als Eiweißstickstoff in den Bakterien sich finde, ist nicht verständlich, da die Ausnutzung des N durch die Bakterien nach der Tab. III nur 10—25% beträgt.

1) Arch. f. Hyg. 22. 180, 1895.

2) 600—700 mg Bakterientrockensubstanz auf 10 Liter Nährlösung.

3) Arch. f. Hyg. 48, 1904.

4) Ebenda 57. 161, 1906.

nungsmethode der Ernte, namentlich was den Stickstoffgehalt angeht, erhebliche Zweifel. Es werden nämlich außer den Bakterien auch noch andere stickstoffhaltige Bestandteile der Lösung gefällt. R u b n e r sieht sich deswegen genötigt, an den unmittelbar bestimmten Werten Korrekturen von 20—70% anzubringen.²⁾ Man wird das Ergebnis um so vorsichtiger benutzen, als R a u l i n bei Schimmelpilzen durchaus abweichende Ergebnisse erhielt (S. 709).

Derselben Methode der Eisenfällung bediente sich N a w i a s k y¹⁾, um die Ernte einer Reihe von aëroben (und anaëroben) Bakterien in Peptonbouillon zu ermitteln, während er deren Zersetzung bzw. Verbrauch durch Bestimmung des Ammoniaks, der Aminosäuren, des Rest-Stickstoffs, der Albumosen und Peptone festzustellen suchte (vgl. S. 514). Verbraucht²⁾ wurden auf 1 mg mittlerer Ernte an Nahrungstickstoff in mg:

	Vibrio Finkler	B. alca- ligenes	B. mesen- tericus	Bac. proteus
in den ersten 10 Tagen .	0,62	1,99	8,64	21,98
in den zweiten 10 Tagen .	0,53	1,41	1,29	5,61
in den dritten 10 Tagen .	—	0	—	3,06

Geerntet wurden in mg Stickstoff der Bakterienleiber:

in der ersten Periode . .	112	20	57	23
in der zweiten Periode .	187	30	101	36
in der dritten Periode . .	132	30	40	38
Gesamtstickstoff der Nahrung	793	507	793	793

Man sieht daraus, daß der Vibrio Finkler, der die größte Ernte gibt (24% Stickstoffausnützung!), verhältnismäßig weitaus am wenigsten stickstoffhaltigen Materials verbraucht, der Proteus, der fast die geringste Ernte gibt (4,8%), die größte Menge davon verbraucht. Wahrscheinlich entnimmt der Vibrio die zum Leben nötige Energie der O x y d a t i o n von meist stickstoffarmen Nahrungsstoffen, der Proteus der G ä r u n g des Eiweißes. Daß in der Tat durch Vergärung von Aminosäuren viel Wärme frei wird, hat N a w i a s k y an anderem Orte gezeigt (§ 237).

Eine Bilanz für den Stoffwechsel des S t a p h y l o c c o c c u s p y o g e n e s suchte R i e m e r³⁾ neuerdings dadurch zu geben,

1) Arch. f. Hyg. 64, 1908.

2) Die Berechnung des Verbrauchs ist nicht klar.

3) Arch. f. Hyg. 71, 1909. Vgl. S. 521.

daß er die Ernte mit der Kohlen sä u r e - und zum Teil mit der Am m o n i a k b i l d u n g verglich. Als Nährboden diente Peptonbouillon in großen Kolben. Die Ernte wurde ähnlich wie in den Versuchen von Arnaud und Charrin (s. u.) durch Bestimmung des Stickstoffgehaltes der Kultur vor und nach der Filtration ermittelt, leider aber nur am Schluß der viele Wochen dauernden Züchtung. Ebenso wurde nur am Schluß das Ammoniak durch Destillation bestimmt, die Kohlensäure dagegen durch fortlaufende (tägliche) Untersuchung des kräftigen Luftstroms, der durch die Kultur strich. In dem einen, am besten studierten Versuch, der 74 Tage dauerte, wurden 185 mg Stickstoff in 8,25 g frischer Bakterienmasse geerntet oder etwa 18% des in dem Pepton gelieferten Stickstoffs bzw. Eiweißes. Außerdem wurden wiedergefunden als neugebildetes Ammoniak 537 mg oder 39,5% des Peptonstickstoffs und 6718 mg Kohlensäure oder 47,6% des Peptonkohlenstoffs. Dieser Überschuß der Kohlensäure über das Ammoniak beweist wohl, daß andere stickstoffärmere Körper außer dem Pepton noch zur Verfügung gestanden haben. Bemerkenswert sind die Veränderungen der täglichen Kohlen sä u r e a u s s c h e i d u n g, die die Verfasser in Form von Kurven niederlegten. Im allgemeinen stiegen diese schnell an, blieben dann eine kurze Zeit auf der Höhe, um langsam wieder abzufallen. Dabei kamen aber im einzelnen große Schwankungen vor, für die auch die sehr unregelmäßigen Ergebnisse der hin und wieder vorgenommenen Keimzählungen keine Erklärung bieten. Zu bedauern ist auch, daß nicht öfter Ernte- und Ammoniakbestimmungen vorgenommen worden sind. Im großen und ganzen bekommt man den Eindruck, als ob Wachstums- und Absterbungsvorgänge mehrfach abgewechselt hätten¹⁾.

Nicht nur die Ausnützung der Nährböden nach der Seite des Stick- und Kohlenstoffs, sondern den ganzen Stoffwechsel bestimmten Arnaud und Charrin²⁾ schon vor längerer Zeit für den *Bac. pyocyaneus* in einer Nährlösung, die außer Salzen 5‰ Asparagin als einzige Stickstoff- und Kohlenstoffquelle enthielt. Die Bakterien-ernte, die allerdings nur aus dem Trockengehalt der Kultur vor und nach der Filtration durch ein Chamberlandfilter bestimmt wurde³⁾,

1) S. auch die Ammoniakkurven und Zählungen, die Berghaus (Arch. f. Hyg. 64, vgl. auch S. 514) für einige andere Bakterien gibt, und über periodisches Wachstum § 36.

2) Compt. rend. ac. sc. 112. 755 und 1157, 1891. Vgl. S. 526 u. 675.

3) Die Methode scheint für diesen Nährboden einigermaßen einwandfrei, wenn das Filter gut ausgewaschen wird. Doch geht dabei vielleicht auch ein Teil der Bakteriensubstanz in Lösung. Der Wert der Arbeit von Arnaud und Charrin wird leider dadurch herabgesetzt, daß sie unzulängliche Angaben über ihre Methodik machen.

betrug auf den Liter 410—670 mg, das ergibt also eine Ausnutzung des Nährbodens von ca. 8—13%. Sämtliches Asparagin wurde binnen 14 Tagen verbraucht, der Verbrauchskoeffizient stimmt daher mit dem Ausnutzungskoeffizienten überein. Eine nähere Untersuchung ergab, daß von dem Kohlenstoffe des Asparagins 13,8% sich in den Bakterien wiederfanden, während 72,5% als Kohlensäure abgeschieden und 13,5% in nicht flüchtigen Produkten des Stoffwechsels — aus der Differenz bestimmt — festgelegt waren. Von dem Stickstoff des Asparagins gingen 4,66% in den Zellkörper der Bakterien über, 4,04% in nicht flüchtige Stoffwechselprodukte und 91% in Ammoniakverbindungen und zwar teils direkt (50%), teils auf dem Umwege über die Asparaginsäure (41%). Die gesamte Sauerstoffaufnahme, die dabei seitens der Kultur stattfand, schätzen die Forscher auf $1\frac{1}{2}$ —2 Liter. Das wären also 2—2,8 g oder etwa das Fünffache des Bakteriengewichts. Man ersieht daraus, daß nicht nur die Ausnutzung beträchtlich geringer, sondern auch der Stoffverbrauch bei diesen aëroben Bakterien ein erheblich größerer ist als bei den Schimmelpilzen unter günstigsten Umständen (S. 714). Der Wärmewert der verbrauchten Stoffe läßt sich zwar nicht genau angeben, aber schätzen. Nehmen wir an, daß auf ein Liter 500 mg Bakterien geerntet und 75% des Asparagins völlig verbraucht seien, so beträgt der Gesamtumsatz in Kal. ausgerechnet etwa $9375^1) + 2250^2) = 11625$ Kal. und der thermische Verbrauchskoeffizient ungefähr 19%. Auch dieser Wert bleibt erheblich unter demjenigen, den wir bei aëroben Pilzen fanden.

Eine so genaue Stoffwechselbilanz wie für den *Pyocyaneus* besitzen wir mit Ausnahme des stickstoffbindenden *Azotobacters* (§ 235) kaum von anderen aëroben Bakterien. Die Gasanalysen Hesses (S. 675) scheinen freilich darauf zu deuten, daß der Gesamtverbrauch im allgemeinen im ähnlichen Verhältnis zur Ernte steht. Bemerkenswert sind aber die in einem Gegensatz zueinander stehenden Ergebnisse, die Tangl und Rubner bei ihren Bestimmungen der Verbrennungswärmen erhielten. Tangl³⁾ fand bei drei in 1% Peptonbouillon gezüchteten Bakterienarten in der kalorimetrischen Bombe folgende Verluste (Verbrauch) an Energie in % der im Nährboden ursprünglich enthaltenen:

	nach 7 Tagen	nach 14 Tagen	nach 27 Tagen
Bac. anthracis . . .	6,1%	8,5%	29,8%
„ suipestifer . . .	9,1%	10,2%	25,9%
„ subtilis . . .	16,2%	19,9%	23,7%

1) Vgl. die Zahlen auf S. 695.

2) Rubner (Arch. f. Hyg. 48, 268) bestimmte die Verbrennungswärme von 1 g trockener Bakterien auf durchschnittlich 4500 Kal.

3) Pflügers Archiv 98, 1903.

Leider fehlt hier eine Bestimmung der Ernte. Diese wurden in einer anderen Versuchsreihe zugleich mit einer Feststellung des Trockensubstanzverlustes nachgeholt. Es fanden sich nach 20 tägiger Kultur im ganzen:

	Trockensubstanzverlust	Energieverlust
Bac. anthracis	5,6%	8,3%
„ suipestifer	24,0%	21,8%
„ subtilis	25,1%	19,9%

Nach Durchgang von 100 ccm durch Kieselgurfilter wurden im Filtrat erhalten¹⁾:

	Trockensubstanzverlust	Energieverlust
Bac. anthracis	13,9%	16,2%
„ suipestifer	27,4%	31,1%
„ subtilis	31,2%	31,6%

Wenn wir das auf und im Filter Zurückgebliebene als Bakterienernte betrachten, berechnen wir daraus für die stofflichen und thermischen Ausnützungs- und Verbrauchskoeffizienten:

	Ausnützung		Verbrauch		Verbrennungswärme von 1 g Bakterien
	der Trockensubstanz	der Energie	an Trockensubstanz	an Energie	
Bac. anthracis	8,3%	7,9%	59,7%	48,4%	4250 Kal.
„ suipestifer	3,4%	9,3%	12,4%	29,9%	4040 „
„ subtilis	6,1%	11,7%	19,6%	37,0%	4650 „

Ein anderer Versuch muß fehlerhaft gewesen sein, denn er führte zu unmöglichen Verbrennungswärmen der Bakterienleiber.

R u b n e r ²⁾ bestimmte in einer zweiten Arbeit wieder unter Benützung seiner Eisenfällungsmethode außer dem Stickstoffgehalt auch die Verbrennungswärme in der Ernte und den Resten der Kulturflüssigkeit und erhielt dabei an einer (anderen) Art von Proteus nach Züchtung bei 36° in 500 ccm 6% Fleischextraktlösung folgende Werte:

1) Aus den absoluten Zahlen von mir berechnet.
2) Arch. f. Hyg. 57. 193, 1906.

Tage	N-Ernte (absolut)	Kalorien- ernte	Thermische Aus- nützung ¹⁾	Verbrauch ²⁾ in Kal.	Thermischer Verbrauchs- koeffizient
10	124 mg	3,01 Kal. ³⁾	3,44%	12,32 Kal.	19,6%
16	95 „	2,62 „	2,99%	16,51 „	15,8%
23	106 „	3,28 „	3,75%	22,81 „	12,5%
31	85 „	3,18 „	3,63%	22,16 „	12,6%
33	111 „	4,21 „	4,81%	23,22 „	15,4%

Man kann daraus vielleicht entnehmen, daß das Bakterienwachstum schon nach 10 Tagen seinen Höhepunkt erreicht hat, der Verbrauch an Stoffen aber noch bis zum 23. Tage anhielt, um dann erst zum Stillstand zu kommen. Daß ähnliche Verhältnisse für die Versuche T a n g l s gälten, wäre möglich. Und die Gasanalysen H e s s e s (s. o.) sprechen auch dafür, ebenso die Befunde K a y s e r s bei der Milchsäuregärung (§ 235). Es ist allerdings nicht ausgeschlossen, daß in der späteren Zeit trotz Absterbe- und Auflösungsvorgängen noch ein gewisses Wachstum besteht (§ 36). Leider gibt R u b n e r keine Zahlen für die in jeder Periode lebenden Bakterien.

In einigen ähnlichen Versuchen, die bei 14,5° ausgeführt wurden, hielten Wachstum und Verbrauch bis zu 37 Tagen an, blieben aber auch zum Schluß noch erheblich hinter den vorigen zurück. Der Verbrauchskoeffizient schwankte unregelmäßig von 19,9—25,9, war also nur wenig höher. Dagegen war zwar die Ausnützung sehr niedrig, aber der Kalorienverbrauch verhältnismäßig hoch, wenn das Wachstum durch stärkere Alkalisierung verschlechtert wurde.

Entsprechende Versuche mit anderen Bakterienarten in demselben Nährboden ergaben für den *P y o c y a n e u s*, ein thermophiles Bakterium (bei 56°), den *B. coli*, von denen namentlich der erstere gut wuchs, Verbrauchskoeffizienten von 25—30%, für *C h o l e r a*, *T y p h u s*, *D i p h t h e r i e*, die schlechter gediehen, solche von 12—17%. Es scheint also wirklich, wie wir es auch an den Schimmel- und Hefepilzen sahen, die Regel zu gelten, daß der Verbrauch

1) Von mir nach den absoluten Zahlen berechnet. Die Ausnützung des Trockensubstanzgehalts berechnet sich auf 4—5% (vgl. oben bei T a n g l), die des Stickstoffs auf etwas weniger.

2) Der Stickstoffverbrauch betrug (durch reichliche Ammoniakbildung) mehr als 33%.

3) Große Kalorien.

an Stoffen und Energie verhältnismäßig um so größer wird, je mangelhafter das Wachstum ist. So würden wir es auch verstehen, daß die Zahlen T a n g l s für denselben Koeffizienten bei dem Bac. anthracis viel höher waren; in der Tat gab er erhebliche größere Ernten. Die Koeffizienten für den Wärmeverbrauch erreichten dabei Werte, wie wir sie oben für Schimmel- und Sprossenpilze gefunden haben. Die Ausnützung bleibt allerdings auch bei den Bakterien immer noch viel niedriger als bei den Pilzen. Es müssen sich also, wie schon oben bemerkt, bei den ersteren während des Wachstums stärkere Hemmungen entwickeln.

R u b n e r hat versucht, den Energieumsatz der Bakterien auf den Tag und je 1 g der mittleren N-Ernte¹⁾ zu berechnen und kommt dabei zu Zahlen, die von 15—60 (großen) Kalorien schwanken und für die pathogenen am größten sind. Daß letzteres aber nur ein Zufall ist und sich nur durch das kümmerliche Wachstum in dem von ihm benutzten Nährboden erklärt, folgt auch aus den Zahlen, die R u b n e r selbst aus den T a n g l s c h e n Versuchen berechnet. Hiernach ständen die pathogenen Keime der Milzbrandbazillen mit 4 Kal. am untersten Ende der Reihe, dann folgte der Subtilis mit 6,9 und der Schweinepestbazillus mit 8,4 Kal. Wir kommen damit schon den Werten nahe, die R u b n e r für den kindlichen Organismus ermittelt hat (3 Kal.). Beim Erwachsenen sinkt er auf 1 Kal. und bei Kaltblütern sogar auf die Hälfte davon, während er bei kleinen Warmblütern (Mäusen und Sperlingen) umgekehrt auf 15—17 Kal. steigt, also sich dem der Rubnerschen Bakterien wieder nähert.

§ 235. Stoff- und Kraftwechsel bei gärungerregenden Bakterien. Auch für die Gärungserreger unter den Bakterien liegen einige Stoffwechselbilanzen vor.

K a y s e r²⁾ hat auf verschiedene Weise versucht, die Bakterien-ernte bei der Milchsäuregärung zu bestimmen. Zunächst dadurch, daß er nach Beendigung der Gärung die Kulturen (in peptonisierter Milch) durch ein kleines Chamberlandfilter schickte und den Bakterienabsatz nach gründlicher Entfettung mit der Menge der erzeugten Säure verglich. Es fand sich, daß

1 g des Bakteriums	1	27,5 g Säure,
1 g „ „	p	18,5 g „

erzeugt hatten. Die Säure bestand im wesentlichen aus Milchsäure, ihre Menge entspricht also wohl annähernd dem vergorenen Zucker.

1) d. h. der durchschnittlich während der Ernährungsversuche vorhandenen Bakteriensubstanz.

2) Annal. Past. 1894. 763 ff.

In einem zweiten Versuch, in dem Bakterien verwandt wurden, die schon durch Filtrierpapier zurückgehalten wurden, ergaben sich für

1 g des Bakteriums n 16,5 g Säure,
1 g „ „ o 15,9 g „

Ganz abweichend fiel dagegen ein dritter Versuch aus, in dem nicht nur die erzeugte Säure, sondern auch der Zuckerverbrauch direkt bestimmt, und der bei Sauerstoffzutritt und -abschluß ausgeführt wurde. Es fanden sich im ersten Fall auf

1 g des Bakteriums n 4,6 g Säure und 6,4 g Zuckerverbrauch, bei Sauerstoffabschluß auf:

1 g desselben Bakteriums 3,5 g Säure und 5,2 g Zuckerverbrauch.

Das sind so niedrige Zahlen, daß man geneigt ist, an Druck- oder Rechenfehler zu denken. Ein letzter Versuch K a y s e r s gibt Aufschluß über den Einfluß des Alters der Kultur auf die B a k t e r i e n e r n t e und die Intensität der Gärung. Es fanden sich in gleichen Teilen (250—300 ccm) der durch Bakterium m vergorenen Bierwürze

nach 3 Tagen ein Bakteriengewicht von 0,342 g und 3,674 Säure,
„ 12 „ „ „ „ 0,303 g „ 6,316 „
„ 45 „ „ „ „ 0,322 g „ 7,576 „

Die Vergärung ging hier beständig weiter, während das Bakteriengewicht schon nach 3 Tagen seinen Höhepunkt erreicht hatte und von da an ziemlich gleich blieb. Der Verbrauchskoeffizient (aus Milchsäure + Ernte bestimmt) sank also mit dem Alter der Kultur sehr erheblich, nämlich von 1:11,8 auf 1:24,5. Man kann sich das wieder (vgl. S. 727) entweder so erklären, daß das gärende Prinzip in den Zellen nach Abschluß des Wachstums erst allmählich zur Geltung kam, oder daß der Stillstand des Wachstums nur ein scheinbarer war, und in Wirklichkeit ebenso viel alte Zellen zugrunde gingen, als neue gebildet wurden. Gleichzeitig stieg übrigens, wie wir schon auf S. 60 berichtet, der Stickstoffgehalt der Milchsäurebakterien von 9,4 auf 11,8 und 11,5. Der K r a f t w e c h s e l der Milchsäurebakterien ließe sich ungefähr bestimmen, wenn man die Milchsäuregärung als die wesentliche Energiequelle ansehen dürfte. Das scheint aber nach den R u b n e r s c h e n Feststellungen (§ 237), die er freilich auf einem etwas anderen Nährboden (Milch) erhielt, nicht berechtigt zu sein. Vielmehr würde kaum die Hälfte des kalorimetrisch ermittelten Wärmeverlusts durch die Gärung gedeckt werden. Verdoppeln wir daher die Gärungswärme des Milchzuckers (130 Kal. nach Berthelot) und rechnen durchschnittlich

20 g Milchsäure auf 1 g Bakterien, so hätten wir einen Umsatz von $4500 + 2 \times 130 \times 20 = 9700$ Kal. und einen thermischen Verbrauchskoeffizienten von $4500:9700 = 46,4\%$, d. h. auch wieder wie bei der Alkoholgärung einen verhältnismäßig geringen Energieverbrauch auf einen hohen Stoffverbrauch¹⁾.

Über die Ausnutzung des Nährbodens durch den Bazillus der Mannitgärung machten Gayon und Dubourg (vgl. S. 398) eine kurze Angabe. Sie fanden auf 100 g verbrauchter Glykose 2,3 g Bakterientrockensubstanz. Die Ernte verhielt sich also zum Verbrauch wie 1:44, ähnlich wie wir es bei der Hefe unter mittleren Belüftungsbedingungen gefunden haben (§ 233). Die Ausnützung des Nährbodens ist hier wie bei der Milchsäuregärung recht gering.

Aus einem Liter Würze von 11 Saccharimetergraden erhielt Beijerinck (vgl. S. 352 u. 371) 6 g trockene Substanz seines anaëroben *Granulobacter butylicum*. Allerdings wird nicht gesagt, ob die gesamte Zuckermenge verbraucht worden war. Nehmen wir das an, so hätten wir eine Ausnützung von 1:18, wie sie bei der Hefe nur unter kräftigerer Lüftung zu erzielen wäre. Dabei macht Beijerinck allerdings die Bemerkung, daß die Nährlösung durch die Bakterien stark schleimig geworden war und der Stickstoffgehalt des Bakterienleibes nur 4% betrug, ein Zeichen, daß ein großer Teil des Zuckers zu Bakterienschleim umgewandelt, also nicht der Butylalkoholgärung verfallen war.

Über den Stoffaufbau und Verbrauch durch die Nitritbakterien teilt Winogradsky einiges mit (S. 602). Sie sollen auf je 1 mg Kohlenstoff²⁾ neugebildeter Leibessubstanz 43 mg Ammoniak zu salpetriger Säure oxydieren. Nehmen wir den Kohlenstoffgehalt ihres Körpers auf 50% an, so hätten wir, da noch einige Milligramm für die assimilierte Kohlensäure hinzukommen, einen Koeffizienten für den Stoffverbrauch von $1:23 = 4,4\%$. Noch viel niedriger scheint er bei den Nitratbakterien zu sein. In beiden Fällen ist auch der Energieverbrauch sehr erheblich; so kommen bei den Nitritbakterien auf jedes Gramm Bakterien $43 \times 4,6$ große Kalorien. Der Verbrauchsquotient ist also $4,5:197,8 + 4,5 = 2,2\%$. Man sieht also, daß die Bakterien, die ihren Kohlenstoff aus der Kohlensäure aufbauen, dazu unverhältnismäßig viel Energie aufwenden, d. h. Wärme entwickeln müssen. Das absolut genommene spärliche Wachstum hindert aber den unmittelbaren Nachweis der entbundenen Wärme.

1) Über ähnliche Untersuchungen bei einem anderen Milchsäurebakterium (*B. aërogenes*) s. u. S. 732, bei Hacke.

2) Bestimmt nach dem Verfahren von Wolff, Degener und Herzfeld durch Verbrennung mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat.

Ganz gewaltig ist der Stoff- und Energieverbrauch bei den Harnstoffbakterien. Nach Miquel (§ 195) setzt 1 Gewichtsteil des Urobacillus Duclauxii 4000 Gewichtsteile Harnstoff um. Die außerdem noch verbrauchten Stoffe kommen daneben natürlich nicht in Betracht. Der Verbrauch an Energie berechnet sich danach auf $4000 \times 0,23$ große Kalorien und der Quotient auf $4,5:920 + 4,5 = 0,5\%$. Die Wärmemessung im Rubnerschen Kalorimeter hat freilich für faulenden Harn eine ziemlich geringe Wärmebildung ergeben (§ 237). Man könnte das wieder durch die geringe Ausnützung, die absolut sehr kleine Ernte (s. u.) erklären. Außerdem gibt es aber auch Harnstoffbakterien von geringerer Gärkraft.

Für die Harnstoffbakterien besitzen wir außerdem einige leider schwer zu verwertende Angaben von Burchard¹⁾. Der Verfasser findet, daß 1000 Individuen seines Micrococcus ureae liquefaciens in Harn gezüchtet innerhalb der ersten drei Tage durchschnittlich 0,00003—0,0002 mg in der Stunde zerlegen und schätzt danach auf Grundlage der Angabe von Nägeli, daß 30 Billionen trockene und 6 Billionen feuchte Spaltpilze auf 1 g entfallen, das Zersetzungsvermögen von 1 g des Mikrokokkus im feuchten Zustande auf 180—1200 g Harnstoff. Mir scheint diese Rechnung, wenn sie auch zufällig mit den oben erwähnten Zahlen Miquels übereinstimmt, nicht genügend gegründet. Wenn Burchard wirklich den Microc. ureae liquefaciens in Händen hatte, so kommen von ihm, da er fast 2 μ im Durchmesser mißt, nur etwa $\frac{1}{6}$ Billionen auf 1 g, also 36 mal weniger als der Autor annimmt, oder, auf das Trockengewicht berechnet, 6 mal weniger. Wir hätten also ca. eine Billion trockener Bakterien im Gramm mit einem Zersetzungsvermögen von 30—200 g Harnstoff stündlich. Dabei hat Burchard die nicht sicher begründete Voraussetzung gemacht, daß die Bakterien sich in geometrischer Progression vermehren. Für kleinere Zeiträume mag das zutreffen, sehr fraglich ist es aber, ob es für längere, wie z. B. für 3 Tage gilt (§ 36). Wir ziehen für unsere Zwecke eine andere Berechnung vor. In zwei Versuchen Burchards, die übrigens recht ungleich ausfielen, fanden sich folgende Verhältnisse:

	Anzahl der Keime in ccm ²⁾		Harnstoff zersetzt bin- nen 72 Stun- den in ccm	Bemerkungen
	zu Beginn	nach 72 Stunden		
Versuch I.	15 531	42 720 720	1,78 mg	Unverdünnter Harn mit 1,345% Harn- stoff
Versuch II	59 613	2 072 971	5,0 „	Ebensolch. m. 2,149% Harnstoff u. etwas phosphorsaurer Ma- gnesia.

1) Arch. f. Hyg. 36.

2) Leider fehlen Zählungen der Keime in der Zwischenzeit von 0 bis 72 Stunden.

Stimmt die Voraussetzung, die wir oben bezüglich der Größe des Mikrokokkus gemacht haben, so haben wir nach Ablauf von 3 Tagen:

	Trockengewicht der Bakterien im ccm	Zersetzte Harn- stoffmenge	Verbrauchs- Koeffizient	Ausnützungs- Koeffizient
I.	0,043 mg	1,78 mg	1 : 41	1 : 320
II.	0,002 „	5,0 „	1 : 2500	1 : 11 000

Mit anderen Worten, die in 3 Tagen zu 1 g herangewachsene trockene Bakteriensubstanz des Mikrokokkus hat 41—2500 g Harnstoff zerlegt. Wahrscheinlich ist die letztere Zahl zu hoch und nur dadurch verursacht, daß die Kultur in Versuch II schon längst den Höhepunkt ihrer Entwicklung hinter sich hatte. Der Zersetzungsprozeß schreitet andererseits hier wie sonst oft genug auch nach dem Zugrundegehen der Bakterien lebhaft weiter, so daß in Versuch I die Menge des zerlegten Harnstoffs nach einigen Tagen die doppelte, in Versuch II sogar die 2½fache Höhe erreichte, während die Zählplatten überhaupt steril blieben. Obige Ziffern erscheinen dadurch um ebensoviel zu niedrig.

H a a c k e ¹⁾ kommt auf ähnlichem Wege wie B u r c h a r d zu dem Schluß, daß 1000 Keime des Bac. aërogenes²⁾ innerhalb der ersten 3 Tage stündlich 0,00001—0,00838 mg Milchzucker zersetzen. Schon diese gewaltigen Unterschiede, die in der Versuchsanordnung keine Begründung finden, zeigen aber die Unwahrscheinlichkeit der Voraussetzungen, auf die die Rechnung gegründet ist. Einige Versuche stimmen besser miteinander überein und führen zu den mittleren Zahlen 0,0001—0,00022 mg. H a a c k e hat auch den Versuch gemacht, die Bakterienmenge, die auf 1 g kommt, durch direkte Zählung festzustellen. Er fand nur ca. 18 Milliarden im Gramm feuchter Substanz. Das ist selbst, wenn man annimmt, daß reichliche Mengen von Schleim in den Bakterien gebildet worden seien, sehr wenig. Der Größe der Bakterien und unseren eigenen Erfahrungen nach wären 20—50 mal mehr zu erwarten. Gesetzt es wären aber nur 180 Milliarden, so hätten wir in 1 g trockener Substanz ca. 1 Billion Bakterien, die imstande wären, stündlich 100—220 g Milchzucker zu zersetzen. Auch hier ziehen wir eine andere Rechnung vor. H a a c k e stellte fest:

	Anzahl der Keime in ccm		Milchzucker zersetzt nach 72 Std. in ccm	Bemerkungen
	zu Beginn	nach 72 Stunden		
Versuch III	10 010	300 600 300	12,40 mg	Molke mit 3,4% Milch- Zucker und Pe- pton
Versuch IV	10 010	40 080 040	9,98 „	

1) Arch. f. Hyg. 42.

2) Die vom Autor angeführten Eigenschaften stimmen mit der üblichen Beschreibung überein, nur soll die Gramfärbung positiv ausgefallen sein. Das spricht für eine Verunreinigung mit Strept. lacticus (s. § 97).

Wir haben dann nach unserer Annahme:

	Trockengewicht der Bakterien im ccm	Zersetzter Milch- zucker im ccm	Verbrauchs- Koeffizient	Ausnützungs- Koeffizient
III.	0,3 mg	12,4 mg	1 : 41	1 : 147
IV.	0,04 „	10,0 „	1 : 250	1 : 1100

Mit anderen Worten: die in 3 Tagen zu 1 g (trocken) herangewachsene Bakteriensubstanz des *Bac. aëro-genes* hat 41—250 g Milchzucker zerlegt. Nimmt man einen späteren Zeitpunkt zum Ausgang der Berechnung, so ändert sich der Verbrauchskoeffizient im Versuch III sehr wenig, denn einer 3fachen Zunahme des Milchzuckerverbrauches entspricht bis zum 12. Tage ein ähnlich gesteigertes Wachstum der Bakterien (a. a. O. S. 30). Im Versuch IV wächst in derselben Zeit der Verbrauch an Milchzucker auch auf das Dreifache, gleichzeitig steigert sich aber die Bakterienzahl auf das 50fache. Der Verbrauchskoeffizient nähert sich daher hier demjenigen des Versuchs III. Selbstverständlich steigt dabei auch die Ausnützung erheblich, so daß die Koeffizienten für Verbrauch und Ausnützung am Ende des Versuchs fast gleich werden. Die Zahl 1 : 40 dürfte also unter den Voraussetzungen, die wir für das Bakteriengewicht gemacht haben, den Verbrauch des Nährbodens durch den *Bac. aëro-genes* am besten wiedergeben¹⁾.

Auch die den freien Stickstoff assimilierenden Bakterien verbrauchen unverhältnismäßig viel Stoff und Kraft dabei. Nach *Stoklasas* ausführlicher Arbeit (S. 632) verschwinden wenigstens in den Kulturen des *Azotobacter chroococcum* auf jedes Gramm neugebildeten Stickstoffs, d. h. ungefähr auf je 10 g der durch Eisenfällung bestimmten Leibessubstanz 99—224 g Traubenzucker. Wenn nun auch ein Teil des Zuckers zu Zwischenprodukten (Essigsäure, Buttersäure, Ameisensäure, Milchsäure, Alkohol) zerfällt, so wird doch der größte Teil volltsändig zu Kohlensäure und Wasser verbrannt. Damit stimmten auch die direkt durch Lüftungsversuche festgestellten Kohlensäuremengen *Stoklasas* und ebenso die *Krainskis* ungefähr überein (a. a. O.). Der zur Verbrennung nötige Sauerstoff ist natürlich sehr bedeutend, wurde aber nicht unmittelbar bestimmt.

Für eine andere aërobe Gärung, die der Essigbakterien, gilt das Gesagte in noch höherem Grade. *Duciaux* (S. 430) gibt dafür folgende Rechnung, die sich auf Versuchsergebnisse *Pasteurs*

1) Vgl. die Milchsäurebakterien *Kaysers* S. 728. Nähme man mit *Hacke* eine 10fach größere Zahl für das Bakteriengewicht an, so stiegen die Koeffizienten auf 1 : 4, eine für Bakterien und namentlich Gärungserreger ganz ungewöhnliche Höhe.

stützt: die Essigbakterien bilden nämlich auf einem Quadratmeter Oberflächenkultur nur etwa 0,5 g Leibessubstanz, verbrauchen aber gleichzeitig 165 mal soviel Luftsauerstoff und verbrennen damit 240mal soviel Alkohol zu Essigsäure. Das ergibt, weil die Verbrennung des Alkohols zu Essigsäure 2,5 große Kalorien entwickelt, einen Wärmeverbrauch von 600 Kalorien auf jedes Gramm Bakterien, also einen Quotienten von $4,5:604,5 = 0,75\%$. In der Essigfabrikation wird die Wärmeentbindung in der Tat sehr fühlbar.

Für die schwefel- und schwefelwasserstoffoxydierenden Mikroben (§ 208 ff.) liegen keine Erntebestimmungen vor. Wahrscheinlich ist aber der Stoff- und Kraftverbrauch ein ähnlicher.— Genaue quantitative Untersuchungen über den Verbrauch der Nährstoffe durch Mikroorganismen, die *peptonisierende* ebenso wie *diastatische* und andere hydrolytische Enzyme bilden, haben wir leider nicht. Wahrscheinlich würde man recht hohe Zahlen finden, da ja diese Enzyme sehr bedeutende Stoffmengen umwandeln können. Ein ungefähres Bild davon kann man sich machen, wenn man bedenkt, wie schnell manche Bakterien ein Gelatineröhrchen, das etwa 1 g Leim enthält, verflüssigen. Wenige, höchstens Dutzende von Milligrammen mögen dazu genügen. Das gleiche gilt von dem Vermögen, Eiweißstoffe gerinnen zu machen. Energetisch betrachtet spielen beide Arten von Vorgängen, die verflüssigenden wie die koagulierenden, keine erhebliche Rolle (§ 228 u. 228b). Man kann freilich auch bei ihnen kaum von einem „Verbrauch“ der Nährstoffe sprechen. Im Gegenteil werden sie ja durch die „Verdauungsenzyme“ zur Ernährung brauchbarer.

Anders wird das erst, wenn *tiefer* Spaltungen der Nährstoffe eintreten. Beispiele für die der Kohlenhydrate haben wir schon bei den Milchsäurebakterien erwähnt (s. o. S. 728), solche für die Eiweißstoffe im § 234, als wir von dem Stoff- und Kraftwechsel des *Proteus* sprachen. In der Tat handelt es sich auch bei diesen Bakterien, wie die ähnlichen Ergebnisse zeigen, wesentlich um Gärungen, nicht um die gewöhnlichen Oxydationen von Aërobiern.

Im vorstehenden haben wir es bald mit der Zersetzung stickstoffhaltiger, bald mit der stickstoffloser Nahrungsmittel zu tun gehabt. Grundsätzliche Unterschiede bestehen nicht in dem Verbrauch der einen wie der anderen, solange sie den wesentlichen Teil der Nahrung bilden, also gleichzeitig Bau- und Betriebsstoffe zu liefern haben. Anders dagegen, wenn neben der Stickstoffsubstanz gleichzeitig große Mengen leicht zersetzlicher, stickstofffreier Nahrung zur Verfügung stehen, dann wird von der ersteren gewöhnlich nur soviel verbraucht, wie zum Aufbau des Körpers und zum Ersatz der unbedeutenden Stickstoffausgaben für die sog. Hilfsstoffe der Zellen (Fermente, Gifte,

Farbstoffe § 68), die teilweise als **S e k r e t e** nach außen verloren gehen, erforderlich ist, während der größte Teil des Stoffverbrauchs auf die stickstofffreie Nahrung fällt. Weitere Angaben über die gegenseitige Vertretung der Nährstoffe und ihre Auswahl durch die Mikroorganismen haben wir in § 58 gemacht.

Zur Ausnützung der **M i n e r a l s t o f f e** des Nährbodens durch die Mikroorganismen haben wir auf S. 88 einiges beigebracht.

§ 236. **Zusammenfassendes über die Stoff- und Kraftwechselbilanz der Kleinwesen.** Aus den Erörterungen der § 232—235 ergibt sich, daß die stoffliche **A u s n ü t z u n g** des Nährbodens, wie sie den Schimmelpilzen eigen ist, nur von wenigen anderen Mikroorganismen erreicht wird, daß nach ihnen viele aërob wachsende Bakterien und an letzter Stelle die Gärungserreger unter den Bakterien und Pilzen kommen. Da das Leben bei Sauerstoffabschluß die Gärfähigkeit vieler Organismen bedingt oder wenigstens steigert, so ist die **A u s n ü t z u n g** der Nährböden größer und geringer, je nachdem sie unter aëroben oder anaëroben Bedingungen leben. Die **M e n g e** der zur Verfügung stehenden Nahrung, d. h. die Dichte der Nährstoffe steigert nur bis zu einer gewissen Grenze die Ausnützung. Wir können in dieser wie in anderen Beziehungen von einer für die Ausnützung **g ü n s t i g s t e n** **B e s c h a f f e n h e i t** des Nährbodens sprechen. Unter solchen günstigsten Bedingungen, aber wie gesagt, wohl nur bei Schimmelpilzen, scheint der Ausnützungskoeffizient bei Ernährung mit Fett oder Alkohol 50%, bei anderer 30% kaum zu überschreiten. Bei Bakterien werden solche Zahlen aber nicht im entferntesten erreicht; 10% ist hier schon sehr viel.

Der **V e r b r a u c h** an Stoffen zu **a n d e r n** **Z w e c k e n** als zum **Z e l l e n a u f b a u** steht im allgemeinen im **u m g e k e h r t e n** **V e r h ä l t n i s** zu der Ausnützung, oder anders ausgedrückt, der ökonomische oder Verbrauchskoeffizient (S. 709) geht mit dem Ausnützungskoeffizienten ziemlich parallel. Während die Schimmelpilze im besten Falle nur 1—2mal mehr Nahrungsstoffe zu ihrem Leben bedürfen, als in ihrem Körper enthalten sind, verbrauchen schon aërobe Bakterien etwa 10mal, Gärungserreger 100 und selbst 1000mal mehr.

Die Erklärung dieser Erscheinungen liegt zum Teil offenbar in den Energieverhältnissen. Bei **A ë r o b i e r n** wächst die **A u s b e u t e** ziemlich regelmäßig mit dem **V e r b r e n n u n g s w e r t** der Nahrungsstoffe, die **A n a ë r o b i e r** bzw. die Gärungserreger verbrauchen weit mehr Nahrung, weil durch die Gärung viel weniger

Energie gewonnen wird als durch (vollständige) Oxydation der Nährstoffe. Ein anderer Teil der Unterschiede liegt aber in der Eigenart der Kleinwesen, der Stoffwechselprozesse, die sie erzeugen, begründet. Schimmelpilze, aërob wachsende Hefe und Milzbrandbazillen speichern in ihrem Körper etwa 50% der im ganzen umgesetzten Energie auf, die Bakterien der Milchsäuregärung etwa ebensoviel, gärende Hefe und *Bac. subtilis* 37—38%, der streng aërobe *Bac. pyocyaneus* und der fakultativ anaërobe *Bac. proteus* 19—20%, die Harnstoff-, Essig- und Nitritbakterien aber nur 0,5—2%! Eine Erklärung dafür zu geben, sind wir vorläufig außerstande. Jedenfalls fällt der zum Aufbau der Zellsubstanz nötige Energiebedarf, wie wir in § 229—231 sahen, rein rechnerisch betrachtet, unter keinen Umständen irgendwie ins Gewicht gegenüber dem tatsächlich gefundenen Energieverbrauch, und es ist wohl noch sehr zweifelhaft, ob der mehrfach in unsern Erörterungen festgestellte Umstand, daß der Stoff- und Kraftverbrauch verhältnismäßig um so größer wird, je spärlicher das Wachstum der Kleinwesen ist¹⁾, uns eine zufriedenstellende Lösung des Rätsels bietet. Wir müssen uns zunächst mit der Tatsache zufrieden geben, daß die zum Betrieb nötige (§ 35) Energie der Kleinwesen gegenüber der zum Aufbau nötigen sehr schwankende Werte besitzt und die letztere stets erheblich übertrifft.

§ 237. **Kraftleistungen der Kleinwesen. Wärmeentwicklung²⁾.** Der Stoffwechsel befähigt die kleinsten wie andere Lebewesen zu Kraftleistungen. Über eine andere Quelle von solchen, wie etwa die grünen Pflanzen sie im Sonnenlichte besitzen, verfügen sie nicht, vielleicht mit Ausnahme der Purpur- und „grünen“ Bakterien (§ 209 und 253). Die im Stoffwechsel zur Geltung kommende chemische Energie muß also nicht nur die Kosten der chemischen Veränderungen, seien sie nun zersetzender oder aufbauender Art, tragen, sondern sich auch in andere Formen von Energie verwandeln. Zu den mechanischen Kraftleistungen gehören die Eigen- und Wachstumsbewegungen³⁾, Erscheinungen der Stoff-

1) Es erinnert das an die Beziehungen, die zwischen Wärmeerzeugung und Oberflächenausdehnung bei höheren Tieren bestehen. Hierbei ist die Wärmeabgabe nach außen entscheidend. Selbstverständlich ist auch die Wärmeabgabe bei den weniger sparsam arbeitenden Bakterien größer als bei den übrigen Kleinwesen (§ 237), aber das kann doch bei diesen poikilothermen Wesen kaum die Ursache der mangelnden Sparsamkeit sein.

2) Vgl. hierzu Pfeffer, Studien zur Energetik, 1892; Pflanzenphysiologie 2. Aufl. 2. Bd. Kap. 15 u. 16, 1904; Ostwald, Grundr. allgem. Chem. 3. Aufl. 247, 1899.

3) Vgl. § 36, 46 u. 56.

aufnahme in die, und der Stoffausscheidung aus den Zellen, der durch Gasentwicklung gelieferte, unter Umständen recht beträchtliche Druck, der sich bei Gärungen in geschlossenen Gefäßen z. B. in deren Zertrümmerung äußern kann, zu den nicht mechanischen außer der chemischen Arbeit die Lichtentwicklung (§ 238) und Wärmeabgabe. Bisher fehlt es an einer genaueren Abschätzung dieser energetischen Faktoren, wahrscheinlich stehen aber alle übrigen hinter der Wärme erheblich zurück. Dies Verhältnis gilt bekanntlich nicht nur bei unseren künstlichen, durch Verbrennung betriebenen Maschinen, sondern auch im Leben der Tiere, während es bei den grünen Pflanzen nur für einzelne Fälle gesichert ist.

Die Krafterleistungen der Krankheitserreger gehen nur scheinbar über die der übrigen hinaus. Allerdings sind die mechanischen Wirkungen, die durch wenige Wundstarrkrampfbazillen, die thermischen, die durch alle fiebererregenden Keime hervorgerufen werden, im Verhältnis zu den Massen der Erreger, ganz gewaltige. Und noch großartiger stellt sich jede Epidemie namentlich durch ihre zerstörenden Leistungen unserem Auge dar. Werden doch durch sie nicht bloß an Tausenden und Abertausenden von Kranken ähnliche Kraftäußerungen bewirkt, sondern auch ebenso viele lebendige Kraftmaschinen zeitweise oder auf die Dauer zum teilweisen oder völligen Stillstand gebracht. Es handelt sich aber hier, wie man leicht einsieht, nicht um unmittelbare Kraftwirkungen der Mikroorganismen, die durch ihren Stoffwechsel im lebenden Nährboden verursacht wären, sondern um Auslösungserscheinungen an eben diesen lebendigen Maschinen, die wir auf mehr oder weniger in die Ferne wirkende „Gifte“ (Kap. XVI) „Angriffs-“ und „Reizstoffe“ (Kap. XVII) zurückführen (vgl. § 51 u. 68).

Daß große Wärmemengen durch Mikrobentätigkeit entwickelt werden können, ist aus der Gärungsindustrie (Alkoholgärung § 94—96, Essiggärung § 135) längst bekannt. Auch die „Selbsterhitzung“ des Tabaks, Heus, Mistes usw. auf Temperaturen bis zu 70°, und deren Selbstentzündung hat man in ähnlicher Weise erklären wollen (§ 157), aber nicht immer mit Recht, da hier ebenso wie in der keimenden Gerste und in den Blütenkolben von Arum die Wärme durch Enzyme der Pflanzenzellen selbst erzeugt werden könnte.

Während der Nachweis der Temperaturerhöhung in diesen Beispielen durch die massenhafte Anhäufung der mikrobienhaltigen Stoffe begünstigt wird, kann man ihn bei Verwendung der üblichen Kulturmengen durch besonders feine Thermometer oder durch Mittel, die

die Wärmeabgabe nach außen herabsetzen, ermöglichen. E r i k s o n¹⁾ ging so vor, daß er die Kugel eines Thermometers mit Filtrierpapier umwickelte, das mit Nährlösung getränkt und mit Hefe beimpft war. Es zeigte sich, daß in einer Wasserstoffatmosphäre, wo das Wachstum der Hefe nur gering ist, die Temperatur um $0,2^{\circ}$, bei Luftzutritt aber um $1,2$ oder gar $3,9^{\circ}$ stieg, je nachdem genügender Zucker zersetzt war oder nicht. R u b n e r s Kalorimeter²⁾ besteht aus einem langhalsigen Glaskolben von 300 ccm Inhalt, der durch zwei luftleer gemachte Hüllen von Glas isoliert ist, und dessen Temperaturen an einem sehr empfindlichen, den Stopfen des Gefäßes durchbohrenden Thermometer abgelesen werden. Das Instrument läßt sich eichen und zur genauen Messung der von beliebigen Mikroorganismen entwickelten Wärme benutzen³⁾. R u b n e r⁴⁾ hat mit seiner Hilfe einige vorläufige Untersuchungen von Faulflüssigkeiten angestellt. Die Temperaturkurven in einem mit faulendem Harn geimpften frischen Menschenharn zeigten z. B. nach einer Inkubationszeit von einem halben Tage einen Anstieg von etwas mehr als $0,1^{\circ}$ und dann einen allmählichen Abfall bis zum Ende des dritten Tages, im ganzen also nur eine im Verhältnis zu der Leistungsfähigkeit der Harnstoffbakterien (S. 731) geringe Wärmeentwicklung. Pferdeharn, Dünger, Jauche erwärmten sich dagegen sehr schnell um $1,2^{\circ}$, kühlten sich ebenso schnell wieder auf $0,2^{\circ}$ ab und hatten nach einer weiteren vorübergehenden Erwärmung erst am 8. Tage wieder die normale Temperatur. Im faulenden Fleischsaft stieg die Temperatur bis zum 2. Tage um $0,2^{\circ}$ und sank dann bis zum 8. Tage. Kotaufschwemmungen (1:3) brauchten meist 1—2 Tage, um sich merklich zu erwärmen, erreichten dann Temperaturen von $0,2$ — $0,4^{\circ}$, die sie längere Zeit festhielten. Offenbar bestehen hier zunächst Wachstumshemmungen (S. 136), die dann aber verwickelten Zersetzungen Platz machen. Leider gab R u b n e r in dieser Arbeit keine ähnlichen Versuche mit Reinkulturen wieder, sondern begnügte sich, die Wärmeentwicklung von Bakterien, die in großen Massen in Nährlösungen aufgeschwemmt waren, festzustellen, weil er so schnellere Anstiege im Kalorimeter erhielt. Das hat den Nachteil, daß man im Unklaren bleibt, ob die Wärme überhaupt beim Wachstum der Bakterien, die unter solchen Bedingungen fast aufgehoben zu sein scheint (S. 136) und nicht vielmehr bloß durch ihre Gärtätigkeit im Nährboden und die Selbstzersetzung (§ 166) im eigenen Leibe gebildet wird. Meist

1) Untersuchg. bot. Inst. Tübingen (P f e f f e r) 1. 105, 1881.

2) Arch. f. Hyg. 48, 1904.

3) Einzelheiten s. bei R u b n e r.

4) Arch. f. Hyg. 57. 228, 1906.

stieg die Temperatur in Aufschwemmungen von 0,5—5 g frischer *Prodigiosus*- und *Colibazillen* nach einer Inkubation von $\frac{1}{2}$ —1 Tage um 0,2—0,4° und sank nach 2—3 Tagen plötzlich, aber nicht vollständig ab. 0,5 g *Proteusbazillen* steigerten sogar in einem kleinen Kalorimeter (60 ccm 6% Fleischextrakt) die Temperatur ohne Inkubation und tagelang um durchschnittlich 0,4—0,8° und bis zu einer Maximalhöhe von 1°. *Rubner* berechnete daraus für 4 Tage eine Wärmeabgabe von 2800 Kal., d. h. 15% der im Nährboden ursprünglich enthaltenen Kalorienmenge. Das entspricht — vielleicht nur zufällig — ziemlich genau den beim Wachstum dieser selben Bakterien in dem gleichen Nährboden verbrauchten Wärmemengen (S. 727). Zum Vergleich diene die ebenfalls von *Rubner* mittelst seines Kalorimeters festgestellte, bei der Autolyse von Leberpreßsaft entwickelte Wärme: sie betrug auf 1 kg Leber nur durchschnittlich 715 Kal. (in 24 Stunden¹⁾), und, da die Wärmebildung nur 3 Tage dauerte, im ganzen nicht mehr als die der 2000 mal kleineren Bakterienmasse. *Nawiasky*²⁾ hat später im Laboratorium *Rubners* diese Versuche vervollständigt, indem er teils lebende *Proteusbakterien*, teils abgetötete, getrocknete und mit Glaspulver zerriebene (Azetondauerpräparate) in großen Mengen in 250—300 g 5%iger Asparaginsalzlösung einbrachte und die Wärmeentwicklung im Kalorimeter beobachtete. Die Temperatursteigerung betrug 0,49°, 0,62°, bzw. 1,04° und wurde nach 18, 12 bzw. 6 Stunden erreicht, je nachdem 2, 4 oder 8 g lebender *Proteusbazillen* angewandt wurden. Nach 28 Stunden, wo die Versuche abgebrochen wurden, obwohl die Temperatur noch um 0,4—0,2° erhöht war, berechnete sich die Wärmeerzeugung auf 592, 820 und 1266 Kalorien³⁾. In einem weiteren Versuch mit 2,55 g Dauerpräparat (aus 8 g frischen Bazillen) stieg die Temperatur nach 9 Stunden um 0,44°, sank nach 24 Stunden auf 0, um dann noch einige Hundertstel Grade weiter zu fallen. Die Wärme betrug hier 569 Kal. Die Quelle der Wärme liegt, obwohl ja autolytische Vorgänge nicht ausgeschlossen sind, im wesentlichen wohl in der Zersetzung des *Asparagins* zu asparaginsaurem Ammoniak (durch Hydrolyse) und dem weiteren Zerfall des letzteren in Bernsteinsäure, essigsaures und Kohlensaures Ammoniak (vgl. Näheres § 169). Da aber die Verbrennungswärme des bernsteinsauren Ammoniaks sogar höher angegeben wird als die des Asparagins, wird die Energie wahrscheinlich nur durch die Zersetzung zu Essig- und Kohlensäure geliefert. Entsprechende Untersuchungen über die

1) Temperaturschlag bis 0,3° in einem Kalorimeter von 250 ccm.

2) Arch. f. Hyg. 66. 1908.

3) Auf 1 g Stickstoffsubstanz des *Proteusbazillus* berechnet sich daraus die Energielieferung auf 19,4 kg Kal. für 24 Stunden.

Wärmebildung bei den Zersetzungen anderer Aminosäuren wären sehr erwünscht, um ein Bild zu bekommen von den energetischen Verhältnissen bei der Eiweißzersetzung und Fäulnis (vgl. S. 686 u. 704).

Mit Hilfe seines Kalorimeters versuchte Rubner ferner, die bei der Alkohol- und Milchsäuregärung entwickelte Wärme zu finden. Bei Einsaat von großen und kleinen Hefemengen¹⁾ stieg die Temperaturkurve im Kalorimeter mehr oder weniger steil um 1—2°, um dann allmählich abzufallen. Daraus und aus der Menge des verschwundenen Zuckers berechnete Rubner die Gärungswärme von 1 g Rohrzucker für Kohlensäure als Gas auf 149,5 Kal.²⁾, für Kohlensäure in Lösung auf 211,7 Kal. Die Inversionswärme des Rohrzuckers wurde ebenfalls im Kalorimeter auf 9,6 Kal. für das Gramm oder auf 3,3 Kal. für das Grammolekül bestimmt³⁾. Die Gärungswärme des Traubenzuckers betrüge also nach Rubner im Grammolekül 25,6 (große) Kal. Nach den freilich wenig vollkommenen Bestimmungen Dubrunfauts⁴⁾, Bouffards⁵⁾ und Browns⁶⁾ wären die gleichen Werte erheblich niedriger (21,4—23,7 Kal.) und ebenso nach der Berechnung aus den Verbrennungswärmen des Traubenzuckers und Alkohols (22,3 Kal.). Namentlich dieser letzte Unterschied, der etwa 12% ausmacht, wäre noch aufzuklären. Man könnte daran denken, daß in Rubners Versuchen, in denen allermeist große Hefemengen in reiner Zuckerlösung eingesät wurden, und dabei keine Vermehrung, sondern Verminderung ihrer Substanz eintrat, außer der Alkoholgärung noch besondere Eiweißzersetzungen mitspielten, indessen konnte es sich dabei nur um anaërobe Vorgänge handeln, durch die vermutlich nicht erhebliche Wärmemengen entwickelt wurden. In der Tat hat Rubner beim Aufschwemmen von großen Mengen Hefe in Wasser nur geringe Temperatursteigerungen⁷⁾ in seinem Kalorimeter beobachtet und bezieht diese ausschließlich auf die Selbstgärung, d. h. die Vergärung des Hefeglykogens (§ 91). Übrigens ergaben auch die Versuche, in denen Rubner die Wärmebildung wachsender Hefe untersuchte, keine

1) Arch. f. Hyg. 49. 1904.

2) Für das Molekül 51,1 und 72,4 Kalorien.

3) Aus den Verbrennungswärmen von Stohmann berechnet 3,1 Kal. (vgl. § 127).

4) Compt. rend. ac. sc. 1856, S. 945.

5) Ebenda 1895, S. 357.

6) Zeitschr. f. Brauwesen 24. 273.

7) Höchstens 0,25° und eine Wärmemenge, die auf 100 g Hefe einer Vergärung von 2,6 g Zucker entspricht. Die Bestimmung der Verbrennungswärme ergab einen 10mal größeren Wärmeverlust, wahrscheinlich aber nur wegen der Verflüchtigung von Stoffen beim Trocknen.

wesentlich kleineren Werte, und die geringen Unterschiede (höchstens 8%) könnten sich noch daraus erklären, daß der Verfasser wohl nicht zutreffenderweise den ganzen Zuckerverlust auf die Gärung und nicht zum Teil auch auf den Ansatz bezog. Die hohen Zahlen R u b n e r s können auch kaum darauf beruhen, daß die Hefegärung keine rein alkoholische ist, denn bei der Bildung der Nebenerzeugnisse (Glyzerin, Bernsteinsäure § 90) werden wohl nicht größere Wärmemengen frei als bei der des Alkohols.

Auffällig ist, daß R u b n e r¹⁾ auch bei der kalorimetrischen Untersuchung der Milchsäuregärung weit größere Wärmemengen entstehen sah, als nach der thermochemischen Berechnung sich ergeben müßte. Die Temperaturkurve stieg bei der freiwilligen Säuerung der Milch im Laufe der ersten 3—4 Tage fast ohne Inkubation und ziemlich gleichmäßig bis auf 1—1,6° und hielt sich dann noch längere Zeit fast auf gleicher Höhe. Sieht man nun auch von der letzteren Erscheinung, die vielleicht durch unkontrollierbare Nachgärungen hervorgerufen wird, ab und berücksichtigt nur die erste Zeit der Gärung, so erzeugt die Vergärung des Zuckers zu Milchsäure — nach der Verbrennungswärme berechnet — kaum die Hälfte der von Rubner wirklich gefundenen Wärme. Welche Wärmequellen sonst zur Verfügung stehen, ist dunkel. Die Gerinnung an sich verläuft nach Rubner ohne Wärmeentwicklung, und bei der Umsetzung der Phosphate durch die Milchsäure entsteht auch nur wenig Wärme. Man könnte an andere Zersetzungen des Milchzuckers, z. B. die (anaërobe) Essigsäuregärung oder an Spaltungen des Kaseins usw. denken. Daß solche mit der Milchsäuregärung einhergehen, ist sicher²⁾, aber bisher glaubte man, daß sie nur eine nebensächliche Bedeutung hätten. Vielleicht traf das jedoch in den Versuchen R u b n e r s deswegen nicht zu, weil sie nicht wie gewöhnlich bei Zimmertemperatur, sondern bei 37° angestellt wurden. Das begünstigt entschieden abnorme Gärungen. Genauere Analysen der Gärungserzeugnisse wurden zwar nicht vorgenommen, jedoch einmal gleichzeitig die Verbrennungswärme der Milch vor und nach der Gärung bestimmt. Dabei zeigte sich ein Verlust an Trockensubstanz von 7% und gleichzeitig eine Zunahme der spezifischen Verbrennungswärme. Das spricht für eine reichliche Bildung flüchtiger Produkte, und zwar aus Zucker oder Eiweiß. Nimmt man an, daß das der Hauptsache nach anaërob aus

1) Arch. f. Hyg. 5. 244, 1906.

2) Vgl. bei der Essigsäuregärung (§ 103) und der Bernsteinsäuregärung (§ 107). Wichtige Einzelheiten namentlich bei K o z a i, Zeitschr. Hyg. 38.

dem Milchsücker entstandene Essigsäure gewesen sei, so scheint zunächst der Mehrverlust an Wärme in gewisser Ausdehnung erklärt, da diese Gärung mehr als doppelt soviel Wärme entbindet, wie die Milchsäuregärung¹⁾. Indessen würde das wieder nicht mit der Verbrennungswärme stimmen. Denn deren Gesamtmenge war in dem Versuch um 1114 Kal. gesunken, während der Trockensubstanzverlust von 1,15 g auch nur zum kleineren Teil als Essigsäure berechnet, mehr als diesen Wert ergeben würde. Bei der Unkenntnis dieses Faktors kann man natürlich auch die Tatsache, daß der durch die Verbrennung bestimmte Wärmeverlust nicht allzu verschieden war von dem kalorimetrisch bestimmten, nicht mit Rubner als Bestätigung seiner kalorimetrischen Messungen ansehen. Wie man also die Dinge auch betrachtet, überall geben sie uns Rätsel auf. Jedenfalls ist eine Nachprüfung der Rubnerschen Untersuchungen namentlich auch mit Reinkulturen und einfachen Zuckerlösungen dringend erwünscht.

Mehrfach wurde schon von der Bestimmung der Wärmeverluste durch die Feststellung der Verbrennungswärme des Nährbodens vor und nach der Züchtung der Mikroorganismen gesprochen. An sich muß man zugeben, daß diese mittelbare Methode ebenso geeignet ist, uns über die von den Keimen entwickelte Energie zu unterrichten als die unmittelbare Bestimmung der während der Kultur der Mikroorganismen entwickelten Wärme. Daß beide Verfahren Schwierigkeiten bieten, folgt aber aus den gegebenen Beispielen. Rubner und gleichzeitig mit ihm Tangel haben die Verbrennungsmethode noch in einer ganzen Anzahl von Fällen zur Messung der Energie von Bakterien benutzt. Wir besprachen die Ergebnisse schon im § 234. Eine Hauptfehlerquelle, die dabei durch Nichtberücksichtigung der während der Kultur und beim Eintrocknen entstehenden flüchtigen Stoffe entsteht, haben beide Forscher teils durch geeignete Wahl der Keime, teils durch Anbringung von Korrekturen zu verstopfen gesucht. Wie weit das gelungen ist, steht dahin. Andere Fehlerquellen sind zwar auch noch vorhanden, fallen demgegenüber aber wohl weniger in Betracht.

Eine dritte Methode besteht darin, aus den einzelnen chemischen Umwandlungserzeugnissen, welche die Keime im Nährboden hervorufen, seien es nun exotherme (Zersetzungen) oder endotherme (z. B. Synthesen), nach den Grundsätzen der Thermochemie die Wärmebildung zu berechnen. Wir haben die Grundlagen dafür in allen vorangehenden Kapiteln und im § 219—231 gegeben. Die Schwierigkeiten sind hier doppelter Natur: erstens kennen wir die einzelnen Vorgänge nach Art und Ausdehnung nur unvollkommen; zweitens sind ihre

1) Nach § 98 nämlich 33 Kal. gegen 15 auf das Molekül Traubenzucker.

Reaktionswärmen vielfach noch nicht sicher genug festgestellt. So haben wir an dem Beispiel der doch verhältnismäßig besonders gut bekannten Alkohol- und Milchsäuregärung gesehen, daß die Berechnung und die unmittelbare Bestimmung der Wärmeentwicklung recht verschiedene Ergebnisse liefern. Trotzdem bleibt uns bisher in vielen Fällen nichts besseres übrig, als diese Verfahren anzuwenden, um uns von den Energieverhältnissen der Mikroorganismen ein Bild zu machen. (Vgl. § 232—236.)

§ 238. **Lichtentwicklung**¹⁾. Wie viele höhere und niedere, auch einzellige Tiere, einige Algen (Peridinen) und holzzerstörende Hutzpilze (*Agaricus melleus* u. a.²⁾), so können auch Bakterien Licht entwickeln. Daß tote Fische und andere Seetiere, seltener Fleisch im Dunklen leuchten, ist eine alte Erfahrung, daß daran „Pilze“, die von ihm sogenannten „*Sarcina noctiluca*“, schuld seien, hat aber erst J. F. H e l l e r³⁾ festgestellt. Nach ihm machte P f l ü g e r⁴⁾ die gleiche Entdeckung noch einmal. Ihm gelang es, die Leuchtbakterien durch ungeleimtes Druckpapier aus dem in 3%iger Seesalzlösung verteilten leuchtenden Schleim der Oberfläche toter Schellfische so abzufiltern, daß die Flüssigkeit nicht mehr leuchtete. Ferner glückten P f l ü g e r schon Übertragungen auf Süßwasserfische, Pferdefleisch usw. unter der Bedingung, daß diese in Salzlösung eingelegt wurden. F. C o h n, F r. L u d w i g, L a s s a r, N ü e s c h, B. F i s c h e r⁵⁾, B e i j e r i n c k, D u b o i s, K a t z u. a. beschreiben dann die von ihnen auf Fleisch, in Meerwasser usw. gefundenen und schließlich auch in Reinkulturen gezüchteten leuchtenden Bakterien unter verschiedenen Namen. Nach den Zusammenstellungen von M i g u l a⁶⁾ und M o l i s c h⁷⁾ wären jetzt schon mehr als zwei Dutzend „Arten“ bekannt. Viele sind aber ungenügend beschrieben, einige Arten, so der „*Micr. Pflügeri*“ wohl zu streichen, denn die gut bekannten gehören alle entweder zu den Stäbchen oder Kommabazillen (*Microspira* Mig.). Die Leuchtbakterien mit B e i j e r i n c k⁸⁾ unter eine Gattung „*Photobakterium*“ zu bringen, geht

1) Über die Aussendung anderer als leuchtender Strahlen durch Mikroben ist bisher nichts bekannt. Bei der Wirkung von Pepsin und Trypsin auf Fibrin sollen nach L a m b e r t n-Strahlen entstehen (Compt. rend. ac. sc. 138. 196, 1904).

2) Aufgezählt bei Z o p f, Pilze, 1890, S. 195.

3) Arch. phys. und path. Chem. und Micr. Wien., N. F. 1853 und 1854, Bd. 6 (nach M o l i s c h).

4) Sein Archiv 10 und 11, 1875.

5) Zeitschr. f. Hyg. 2. 54, 1887; Zentr. Bakt. 3, 4 und 15, 660.

6) System der Bakterien 2. Bd., 1900.

7) L a f a r s Handb. 1. 625, vgl. auch „Leuchtende Pflanzen“, 1904 und Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien 1902—1904.

8) Ref. Zentr. Bakt. 7. 338 (auch K o c h s Jahresber. 1890. 180).

aus demselben Grunde nicht an, zumal da auch die Stäbchenformen bald dem unbeweglichen Aërogenestypus (*Bacterium* Mig.), bald dem peritrichen *Bacillus* Mig. oder der lophotrichen *Pseudomonas* Mig. zugehören. Wie verbreitet die Leuchtbakterien sind, hat *Molisch* gezeigt, indem er beliebige, vom Schlächter bezogene Fleischstücke, in eine 3%ige Kochsalzlösung halb untergetaucht, bei 9—12° unter Glocken stehen ließ. Nach 1—3 Tagen waren 89% der Rindfleisch- und 66% der Pferdefleischproben durch das *Bact. phosphoreum* leuchtend geworden.

Schon aus *Pflügers* Filtrerversuchen folgt, daß die Lichtentwicklung an den Bakterienzellen haftet, *Fischer*, *K. B. Lehmann*¹⁾ und fast alle anderen Forscher haben das nur bestätigen können. Die von *Ludwig*²⁾ verfochtene Ansicht, das Leuchten werde durch Ausscheidung eines Leuchtstoffes bewirkt, der wie andere organische Körper (Traubenzucker, ätherische Öle, manche Fette, aromatische Kohlenwasserstoffe) mit Alkalien und Sauerstoff, bei gewöhnlicher oder höherer Temperatur geschüttelt phosphoresziere (*Radziszewsky*³⁾), schwebt bisher in der Luft. Die Photogramme der Leuchtbakterien, die mit ihrem eigenen Licht aufgenommen sind, geben nach *Molisch*, entgegen der Behauptung *Ludwigs*, nur Bilder der Kolonien, keine Ausstrahlung in die Umgebung. Auch *Dubois*⁴⁾ nimmt einen Leuchtstoff (Luziferin) bei den Bakterien, wie bei der Bohrmuschel, an, glaubt aber, daß er durch ein Enzym (Luziferase) oder durch oxydierende Chemikalien (Permanganat) erst zum Leuchten gebracht werde. Wenn man sich vorstellt, daß das im Inneren der Zelle geschähe, so wäre an sich nichts dagegen einzuwenden. Beweise dafür, die nach Art des Zymaseversuchs anzustellen wären, fehlen aber. Im Gegenteil fanden *Bernard* und *Macfadyen*⁵⁾, daß das Leuchtvermögen ihrer Bakterien zwar die Temperatur der flüssigen Luft aushielt, aber verloren ging, sobald die Leiber bei dieser Temperatur zerquetscht wurden. Man wird also wohl die von *Beijerinck* und anderen ausgesprochene Ansicht, das Leuchten beruhe auf einem Vermögen, das nur dem lebenden Protoplasma zukomme, mindestens insofern annehmen dürfen, als die Anregung zum Leuchten nicht immer von einem isolierbaren

1) Zentr. Bakt. 5. 24.

2) Zentr. Bakt. 2. 372.

3) Ber. deutsch. chem. Gesellsch. 77. 70 und *Liebigs Annal.* 203. 1880.

4) *Compt. rend. ac. sc.* 107. 502, 1888; *Leçons de physiol.* 2. Bd. 1898; *Soc. biol.* 1905. 1043.

5) *Ann. of botany* (*Kochs Jahresber.* 1902).

Enzym auszugehen braucht. Vielleicht sind aber andere als die von den englischen Forschern benutzten Bakterien geeigneter zur Darstellung etwaiger „Oxydasen“ (N a d s o n ¹⁾); die Bildung bestimmter Leuchtstoffe, die Beijerinck ebenfalls leugnet, ist auch durch Bernard und Macfadyen nicht widerlegt.

Die Beschaffenheit des von den Leuchtbakterien ausgestrahlten Lichtes hat man spektroskopisch untersucht und dabei ziemlich übereinstimmend gefunden, daß das Spektrum kontinuierlich ist und einerseits bis in das Violett, andererseits aber nur bis höchstens in das Gelb hineinreicht (L u d w i g ²⁾, B e r n a r d und M a c f a d y e n, G o r h a m ³⁾, M o l i s c h). Schon deswegen ist es wenig wahrscheinlich, daß das Bakterienlicht Chlorophyll zur Assimilation befähigt. I s s a t s c h e n k o ⁴⁾ hält allerdings seine in dieser Beziehung gewonnenen positiven Ergebnisse gegenüber M o l i s c h aufrecht. P h o t o g r a p h i s c h e Wirkungen des Bakterienlichts sind aber allseitig anerkannt, und neuerdings auch phototaktische auf Pflanzenkeimlinge nachgewiesen worden.

Die Farbe des Bakterienlichtes ist weißlich, mit einer Beimischung von gelb, grün oder blau. Das Licht ist ein gleichmäßiges und wird nicht wie das vieler Tiere durch Reizung nur für kurze, sondern meist für längere Zeit erregt.

Die Grundbedingung der Lichtentwicklung ist S a u e r s t o f f z u t r i t t. Es gibt zwar fakultative Anaërobier unter den Leuchtbakterien, aber sie leuchten nur da, wo ihnen freier Sauerstoff zu Gebote steht. Unter Wasserstoff oder Kohlensäure hören daher die leuchtenden Rasen oder Flüssigkeiten bald zu leuchten auf und ebenso, wenn die Fäulnis in ihnen überhand nimmt. Umgekehrt befördert Schütteln mit Luft das Leuchten oder ruft es augenblicklich hervor. Spuren von Sauerstoff, wie sie z. B. von Algen im Licht ausgeschieden werden, genügen allerdings zur Lichtentwicklung, so daß Beijerinck und M o l i s c h ⁵⁾ neuerdings die L e u c h t b a k t e r i e n als f e i n s t e s R e a g e n s auf S a u e r s t o f f e n t w i c k l u n g anwenden. Ein brennendes Streichholz genügt z. B., um das Leuchten von Bakterien in einer oberflächlich filtrierten Aufschwemmung von zerriebenen Blättern hervorzurufen. Danach kann es sich nur um so geringe Sauerstoffmengen handeln, daß es nicht möglich ist, die dabei anzunehmende Oxydation durch ihre Produkte (Kohlensäure) nachzuweisen.

1) Vgl. K o c h s Jahresber. 1903. 127.

2) Zeitschr. wissenschaftl. Mikr. 1, 1884.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 13. 327, 1904.

4) Ebenda 10. 497.

5) Botanische Zeitung 1904. 1.

Man könnte denken, daß hohe *T e m p e r a t u r* einen befördernden und niedere einen hemmenden Einfluß auf das Leuchten ausübe. Das ist auch innerhalb der Wachstumsgrenzen der Leuchtbakterien der Fall, weshalb meist Temperaturen von 20—30° am günstigsten für das Leuchten zu sein pflegen. Jenseits der Wachstumsgrenzen, die gerade bei Leuchtbakterien manchmal bis auf 0° hinuntergehen sollen, wirken aber höhere Temperaturen viel schädlicher, als niedere (s. u.). So hatte schon Heller gefunden, daß seine *Sarcina noctiluca* selbst im Eise bei —14° R. weiter leuchtete. Nicht alle Leuchtbakterien sind aber so widerstandsfähig gegen niedere Temperaturen (Pflüger, Fischer). Die Temperatur der flüssigen Luft hebt zwar bei längerer Einwirkung die Lichtentwicklung immer auf, nach dem Auftauen beginnt sie aber sehr schnell wieder (Bernard und Macfadyen s. o.).

Die Art der *E r n ä h r u n g* ist von wesentlicher Bedeutung für die Leuchtbakterien und ihre Tätigkeit. Am wichtigsten ist für die allermeisten von ihnen ein hoher *S a l z g e h a l t*, daher sie oder Fischer auch „Halibakterien“ genannt werden. Die besten Nährböden für Leuchtbakterien enthalten als Grundlage Meerwasser oder 3%ige Kochsalzlösung. Wie Molisch feststellte, ist für das *Bact. phosphoreum* Kochsalz nicht unentbehrlich, sondern ebenso gut oder besser brauchbar sind die Chloride des Kaliums, Magnesiums, Kalziums, ferner Jodkalium, Kaliumnitrat und -sulfat. Magnesiumsulfat und Dikaliumphosphat sind am wenigsten oder gar nicht geeignet, obwohl sie reichliches Wachstum zulassen. Andere Arten verhalten sich verschieden, und einige von Kutscher¹⁾ aus Elbwasser oder Kot gezüchtete leuchtende Vibrionen bedürfen keines besonderen Salzzusatzes. Die von Beijerinck untersuchten Arten brauchen entweder wenigstens Pepton oder außer diesem noch eine andere Kohlenstoffquelle zum Wachstum und Leuchten. Gorham fand aber auch solche, die in einfacher Asparaginlösung wuchsen und durch Zusatz von organischen Säuren, Natrium- und Magnesiumsalzen zum Leuchten gebracht wurden. Außerdem wissen wir, daß viele Leuchtbakterien schon im Meerwasser vorkommen. Die Wirkung der einzelnen Stoffe prüfte Beijerinck mit Hilfe seiner „auxanographischen“ Methode, d. h. indem er sie auf einen mit Leuchtbakterien besäten, aber zu deren Gedeihen ungenügenden Nährboden brachte und nun das Eintreten der Phosphoreszenz oder des Wachstums in dem Diffusionsfeld abwartete. Die erstere erscheint oft schon unmittelbar nach dem Aufbringen einer Spur des Lichtnährmittels auf die Platte, ist also,

1) Zentr. Bakt. 18. 424, 1895.

wie wir schon wiederholt sahen, unabhängig von dem Wachstum. Die einzelnen Leuchtbakterien reagieren in ungleicher Weise auf die Nährstoffe, indem z. B. der *Bac. phosphorescens* Maltose gebrauchen kann, der *Bac. Pflügeri* nicht. Eine Stärke enthaltende Gelatineplatte, die mit dem ersteren beschickt ist, leuchtet daher an Stellen auf, die mit Diastase in Berührung kommen. Man kann in solcher Weise die *auxanographische Methode zum Nachweis von Enzymen benutzen*. Schimmelpilze zerstören nach *Friedberger und Döpner*¹⁾ die Leuchtkraft phosphoreszierender Bakterien. Ob die Änderung der Reaktion oder andere Einflüsse dafür die Ursache abgeben, ist nicht bekannt.

Physikalische Einwirkungen scheinen die Lichtentwicklung der Bakterien weit weniger leicht anzuregen. So leugnet *Pflüger* den Einfluß der mechanischen Erschütterung²⁾, *Fischer* auch den der Belichtung. Mittlere Temperaturen (s. o.) befördern dagegen die Phosphoreszenz, so z. B. schon die Erwärmung der Kulturen in der Hand.

Wie es *Lichtreize* gibt, so kennen wir auch *Lichtgifte*. Dahin gehören, wie schon *Pflüger* fand, starke Säuren und Alkalien, konzentrierte Salze und umgekehrt destilliertes oder Leitungswasser, Mineralsäuren, Karbolsäure und Chinin. Der schnell verdunstende Äther und Ammoniak lähmen nach *Fischer* nur vorübergehend die Lichtentwicklung. Nach *Tarchanoff*²⁾ vernichten die Anästhetika Chloroform, Äther, Alkohol, ebenso wie Zyankalium und Chinin die Leuchtkraft augenblicklich, nicht dagegen Strychnin und Kurare. Die letzteren Alkaloide scheinen ja überhaupt für Bakterien unschädlich zu sein. Die schon erwähnte hemmende Wirkung niederer und höherer Temperaturen tritt ziemlich schnell ein, so hatten in *Fischers* Versuchen schon Temperaturen von 37—40° einen deutlichen Einfluß, wenn sie einige Minuten gewirkt hatten, und nach der ebenso kurzdauernden Erwärmung auf 42° brauchte die Kultur 24 Stunden, um wieder einigermaßen zu leuchten. Es lohnte sich, zu untersuchen, ob hier nur eine „Wärmestarre“ vorliegt oder eine Abtötung. Im elektrischen Strom sammeln sich die Bakterien am negativen Pol, wo ihr Leuchten nach einiger Zeit erlischt, um nach Aufhören des Stroms wieder zu erscheinen (*Tarchanoff*).

Die Bedeutung der Phosphoreszenz für die Leuchtbakterien selbst ist unbekannt. Ihre Verwendbarkeit als Lichtquelle ist bewiesen durch ältere Versuche, in denen es gelang, die Kulturen in ihrem eigenen Lichte und auch fremde Gegenstände darin zu photographieren, vor

1) Zentr. Bakt. 43, 1907.

2) Vgl. aber *Tarchanoff*, Compt. rend. ac. sc. 133. 246 (*Kochs* Jahresber. 1901. 113).

allem durch die größeren Erfolge von Dubois¹⁾ und Molisch. Ein großer Glasballon, dessen innere Oberfläche mit Gelatine ausgegossen und mit Bact. phosphoreum beimpft war, diente ihnen als genügende „Nachtlampe“, deren Leuchtkraft in einem kühlen Raume etwa 14 Tage anhielt. Aussichten für eine technische Verwendung derselben sind wohl kaum vorhanden, auch wenn man sich stärker leuchtender Bakterien bedient als Lode²⁾, der ausrechnete, daß zur Erzielung der Lichtstärke von einer Normalkerze 2000 qm Koloniefäche nötig wäre. Auf die Benutzung des Bakterienlichtes nach Beijerinck wurde schon hingewiesen.

Eine gewisse Bedeutung haben die Leuchtbakterien durch ihre Fähigkeit, sich auf Nahrungsmitteln wie Fischen, Hummern, Austern, Fleisch, Kartoffeln, Sooleiern anzusiedeln. Schädlich ist das leuchtende Fleisch usw. zwar nicht, aber sicher nicht appetitlich.

Lebende Tiere werden im allgemeinen von den Leuchtbakterien verschont, immerhin haben schon Giard und Billet³⁾ eine auf Talitrus parasitierende Art beschrieben. Es gelang, mit den Reinkulturen diese und andere Krustentiere so zu infizieren, daß sie über den ganzen Körper grünlich phosphoreszierten und durch Allgemeinerkrankung zugrunde gingen. Auch andere Leuchtbakterien sollen durch Züchtung auf Fischfleisch gleiche Eigenschaften annehmen, doch kann das nur ausnahmsweise geschehen, da sonst die Infektionen häufiger beobachtet werden müßten. Mit der Phosphoreszenz hat diese infektiöse Wirksamkeit offenbar nichts zu tun, denn die erstere kann verschwinden, während die letztere fortbesteht.

Interesse haben die leuchtenden Vibrionen des Flußwassers, die wir namentlich durch Dunbar⁴⁾ kennen gelernt haben, dadurch gewonnen, daß sie den Cholerabakterien zum Teil außerordentlich ähnlich sind und in denselben Monaten, in denen die Choleraepidemien aufzutreten pflegen, im Wasser auftreten.

1) Die Umschau 1901, 221 und bei Molisch.

2) Zentr. Bakt. 35.

3) Soc. biol. 1889 und 1890.

4) Arb. Gesundheitsamt 9 u. Zeitschr. f. Hyg. 21, 1895.

Kapitel XIV.

Fermente (Umsatzstoffe).

§ 239. **Einleitung**¹⁾. Fermente nennt man solche Bestandteile lebender Zellen, die bestimmte chemische Reaktionen hervorrufen (bzw. nur beschleunigen, Ostwald), ohne selbst (dauernd) in die Reaktionsprodukte überzugehen. Darauf beruht die Eigenschaft der Fermente, durch kleine Mengen große Mengen Stoff umzuwandeln. Enzyme²⁾ oder „ungeformte“ Fermente (Kühne) sind diejenigen, die sich von den lebenden Zellen trennen lassen. Der Unterschied gegenüber den „geformten“ oder „organisierten“ Fermenten, bei denen das nicht möglich ist, die man daher auch als „Protoplasma-“ oder „Gärkräfte“ bezeichnet hat, ist kein wesentlicher, wie wir schon oft betont haben (Kap. IV ff.). Die Entdeckung der Zymase hat uns klar genug vor Augen geführt, daß die Grenze von heute auf morgen mit den Fortschritten unserer Untersuchungsmethoden leicht verschoben werden kann. Mit den anorganischen „Kontaktsubstanzen“ oder „Katalysatoren“ haben die Fermente viel gemeinsam, so daß man sie organische Katalysatoren oder letztere anorganische Fermente nennen könnte. Doch ist es besser, diese unzweifelhaften Analogien zwar im Auge zu behalten, aber die Verschiedenheiten, vor allem einerseits die Spezifität und andererseits die größere Leistungsfähigkeit der

1) Vgl. Duclaux, Mikrobiol. 2. Bd. (1899); Oppenheimer: Die Fermente, 2. Aufl. 1903; Bredig: Elemente der chemischen Kinetik mit besonderer Berücksichtigung der Katalyse und der Fermentwirkung in Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie 1. 1. (1902). Dort auch die Geschichte und die noch ganz dunkle Theorie der Fermentwirkung. Über Enzyme der Mikroben s. auch H. Fischer in Lafars Handb. 1. 255 (1904) und Fuhrmann: Vorl. über Bakterienenzyme (1907).

2) Ein deutscher Name für die Enzyme oder Fermente fehlt uns. Man könnte sie „Umsatzstoffe“, die hydrolytischen oder Verdauungsenzyme „Vorbereitungsstoffe“, die Gärungsfermente „Gärstoffe“ nennen. Gewöhnt man sich an diese Bezeichnungen, so sind Verwechslungen nicht zu befürchten. Über die Benennung der einzelnen Enzyme vgl. S. 198.

Fermente auch nicht zu übersehen, und nicht die Gesetze, die für jene gefunden worden sind, ohne weiteres auf diese zu übertragen.

Über das Verhältnis der Fermente zu den Giften, den *Toxinen* und namentlich den Hämolsinen werden wir später zu sprechen haben (Kap. XVI, § 256 u. 314). Zunächst ergibt sich die Notwendigkeit einer Trennung beider Begriffe schon daraus, daß wir die Art der chemischen Reaktionen, die von den Toxinen hervorgerufen werden, nur sehr unvollständig oder gar nicht kennen.

Es ist üblich, die Fermente nach dem Fund- bzw. Wirkungsort in intrazelluläre und extrazelluläre, nach ihrer Widerstandsfähigkeit in beständige (stabile) und unbeständige (labile), und nach ihrer Bedeutung für das Zelleben in verdauende, kraftliefernde (dissimilierende) und aufbauende (assimilierende, synthetische) zu scheiden, doch haben diese Unterscheidungen in vielen Beziehungen keine genügende Berechtigung.

Die verschiedenen chemischen Leistungen, zu denen die Fermente befähigt sind — Verflüssigung, oberflächliche hydrolytische Spaltung, tiefe Spaltung oder Gärung im engeren Sinne, Oxydation, Reduktion, Anhydridbildung, Kondensation, Synthese — haben wir schon in den vorhergehenden Kapiteln im einzelnen gewürdigt und im Zusammenhang im Kap. IV behandelt, ferner die Oxydationsenzyme in § 222, die Gärungsenzyme § 224a, die übrigen § 228 bis 228b aufgezählt. Hier sollen nur die gemeinsamen Eigenschaften der Fermente und namentlich der Enzyme, ihre Darstellung und chemische Natur, der zeitliche Verlauf ihrer Wirkungen, deren Abhängigkeit von den Mengenverhältnissen, von der Temperatur und anderen physikalischen und chemischen Einflüssen u. a. m. besprochen werden.

§ 240. Ausscheidung, Darstellung und chemische Natur der Enzyme. Wenn wir von der „Darstellung“ der Enzyme — die geformten Fermente lassen sich überhaupt nicht darstellen — sprechen, so müssen wir gleich vorausschicken, daß diese bisher in keinem einzigen Falle im strengen Sinne des Wortes geglückt ist. Es gelingt nur, Stoffe von der lebenden Zelle zu trennen, die fermentierende Eigenschaften besitzen. Diese Stoffe sind aber immer mehr oder weniger verwickelte *Gemenge*, keine chemischen Individuen, wie die anorganischen Katalysatoren (Platinmohr, Schwefelsäure usw.).

Es ist Brauch, die Enzyme danach einzuteilen, ob sie von den Leibern der Zellen nach außen abgegeben — abgesondert, sezerniert — werden, um dort zu wirken, oder an den Zellen haften; mit anderen Worten: ob sie extrazelluläre oder Ektoenzyme, „Sekrete“ oder intrazelluläre, Endoenzyme, Leibesbestandteile, sind. Uns scheint, daß

die Unterscheidung, selbst wenn man sie in jedem Fall treffen könnte, keinen erheblichen wissenschaftlichen Wert besitzt, sondern nur einen praktischen, weil sie eigentlich nur auf der verschiedenen Darstellungsmethode der Enzyme beruht. In erster Beziehung ist zu bedenken, daß wir fast niemals sicher sagen können, ob die Enzyme, die wir außerhalb der Mikroben finden, von ihnen in lebendem oder totem Zustande ausgeschieden worden sind. Stirbt doch anscheinend regelmäßig ein mehr oder weniger großer Teil der Mikroben schon während des Wachstums ab, und hört doch in vielen Fällen das Wachstum schon sehr früh in den Kulturen auf, um einem bald schnelleren, bald langsameren Absterben Platz zu machen (§ 36 u. 37). Wir hätten also vielleicht ein Recht, sämtliche, auch die gewöhnlich als Sekrete bezeichneten Enzyme als Erzeugnisse der Zellauflösung aufzufassen, um so mehr, da auch bei der Sekretion der Drüsen höherer Organismen Vorgänge, bei denen Zellen ganz oder teilweise absterben, eine Rolle spielen. Man könnte, wenn irgendwo, gerade in diesen Fällen den mit Enzymausscheidung verbundenen Zelltod für eine „Anpassungserscheinung“ erklären, indem bei dem engen Zusammenleben der Kleinenwesen miteinander der Tod des einen Teils der Individuen dem anderen Teil zugute kommt. Beiläufig wird dieser Gesichtspunkt auch zu beachten sein, wo es sich nicht um Freiwerden von Enzymen, sondern von Giften (XVI) und namentlich von Angriffsstoffen (XVII) in lebenden Tierkörpern und von giftwidrigen Stoffen in toten Nährböden (§ 57) handelt.

Hierzu kommt, daß zwischen der Absonderung lebenskräftiger Zellen und ihrer vollständigen Auflösung beim Tode sich Übergänge denken lassen, indem der Anstoß zu einer Abgabe von Körpersubstanzen, also zu einer teilweisen Auflösung z. B. schon durch irgendwie ungünstige Lebensbedingungen gegeben werden könnte, und der Tod der Zelle noch nicht die sofortige Folge zu sein brauchte.

Aber auch wenn wir nicht so weit gehen und die Absonderungen vollkräftiger Zellen nicht ganz ausschließen wollen, müssen wir zugeben, daß in nicht wenigen Fällen von den Ekto- und Endoenzymen die gleichen Aufgaben, z. B. die der hydrolytischen Zucker- oder Eiweißspaltung, erfüllt werden. Die durch sie bewirkte „Verdauung“, d. h. die Vorbereitung der Nahrung zu tiefen kraftliefernden Spaltungen oder zur Assimilation, kann eben nicht nur innerhalb, sondern auch außerhalb der Zellen erfolgen. Soviel scheint freilich durch die Erfahrung gesichert zu sein, daß die eigentlichen Kraftleistungen stets durch Endoenzyme vermittelt werden, natürlich deswegen, weil die erzeugte Kraft sonst für die Zellen kaum nutzbar gemacht werden kann. Auf

der anderen Seite ist aber ebenso zweifellos, daß die Ektoenzyme nur innerhalb der Zellen gebildet und oft von ihnen in so großer Menge aufgespeichert werden, daß man sie, wie es ja übrigens bei den Enzymen höherer Zellen auch oft geschieht, aus den Zellen selbst, wie die Endoenzyme, darstellen kann.

Betrachten wir zunächst diese letztere Art des Vorgehens zur Gewinnung von Enzymen.

Eine viel benutzte, aber rohe Art der Darstellung von Enzymen besteht darin, daß man die Zellen tötet und dann einfach ihre toten Leiber so wie sie sind, oder zerrieben mit den zersetzbaren Stoffen zusammenbringt. Dieses Verfahren kann man fast überall verwenden; es ist sogar vielleicht das wirksamste. Doch muß man die richtigen Mittel zur Abtötung der Zellen wählen, weil große Unterschiede in dem Verhalten der Enzyme gegenüber ihnen bestehen. Das zeigt sich schon gegenüber der Temperatur (§ 244). Ausnahmsweise nur vertragen sie (im feuchten Zustande) die Siedehitze, gewöhnlich widerstehen sie $\frac{1}{2}$ —1 Stunde Temperaturen von 55 bis 60°. Das Harnstoffenzym wird sogar schon durch eine niedrigere Temperatur geschädigt. Im trockenen Zustande, der allein nur ausnahmsweise eine sichere Abtötung der Zellen gewährleistet, vertragen die Enzyme hohe Temperaturen viel besser. In manchen Fällen, z. B. bei der „Dauerhefe“ (Zymin S. 255), dem Milchsäure- (S. 305) und Essigenzym (S. 429) hat es sich nützlich erwiesen, die Zellen durch vorheriges scharfes Trocknen und nachfolgendes Erhitzen auf 100° oder durch oberflächliches Trocknen und schnelle Behandlung mit flüchtigen antiseptischen Stoffen, Alkohol, Äther, Azeton, Chloroform, Toluol, ätherischen Ölen, die man nachher durch Verdunstung entfernt, abzutöten. Die Benutzung von nicht flüchtigen antiseptischen Mitteln hat den Nachteil, daß sie sich schwerer vollständig entfernen lassen und darum durch ihre Nachwirkung die Enzyme schädigen. Indessen zeigen diese sich auch gegenüber ihnen wie überhaupt chemischen Stoffen sehr ungleich empfindlich (§ 248), so daß man von allgemeinen Regeln höchstens die aufstellen kann, daß man möglichst vorsichtig mit dem Zusatz von ihnen verfahren muß, um nicht die Enzyme zu zerstören.

Ein noch einfacheres und auf den ersten Blick schonenderes Verfahren besteht darin, daß man die Lebenstätigkeit bzw. Wachstumsfähigkeit der Zellen z. B. durch Einbringen in Lösungen, denen wichtige Nährstoffe fehlen, oder durch aller kleinste antiseptische Zusätze zu den gewöhnlichen Nährböden oder durch Temperaturen von 50—55° ausschaltet. Schließlich handelt es sich dabei aber nur besten-

falls um eine langsamere Art der Abtötung, die in mehrfacher Beziehung noch dazu nicht einwandfrei ist. Zunächst wird die „Protoplasmawirkung“ nicht sicher genug ausgeschaltet, dann machen sich in solchen langsam absterbenden Zellen zwar manche Enzymwirkungen, z. B. in Form der bekannten Selbstverdauung (§ 266) und „Selbstverbrennung“ (§ 226), unzweifelhaft bemerkbar, schädigen aber auch oft die übrigen Enzyme (z. B. die Zymase S. 255). Dieselben Bedenken betreffen die Benutzung alter, freiwillig absterbender oder schon ganz abgestorbener Kulturen. Besser ist es, man tötet ganze, aber frische Kulturen bzw. Aufschwemmungen von Kulturrasen durch Zusatz von 0,5% Karbolsäure, Chloroform, Toluol, Senföl sicher ab. Oft genug gelingt es so, sich von ihren enzymatischen (z. B. diastatischen § 69) oder proteolytischen (§ 165 u. 166) Leistungen zu überzeugen.

Die enzymatische Wirkung der toten Leiber der Mikroorganismen kann entweder in der Weise erfolgen, daß die zersetzten Stoffe in die Zellkörper hinein diffundieren und dort zersetzt werden, oder daß umgekehrt die Enzyme von den toten Zellen nach außen abgegeben werden. Beides kommt vor, das eine braucht das andere aber nicht auszuschließen. In jedem Falle wird man kräftigere Enzymwirkungen erwarten dürfen, wenn man den Zusammenhang der Zelle zerreißt, sie z. B. durch Verreiben mit Glaspulver, Sand und Kieselerde zerquetscht, weil man dadurch die wirksamen Stoffe in innigere Berührung mit dem zersetzbaren Material bringt. Da aber gleichzeitig die mechanische Zerreißung der Zelle diese auch tötet, bedarf man eigentlich kaum noch eines besonderen Abtötungsverfahrens mehr und wendet solche nur noch der größeren Sicherheit wegen an. Man sieht ferner auf diesem Wege die Möglichkeit vor sich, durch Ausspülen oder Auspressen unter hohem Druck, Ausschleudern oder Filtrieren des Saftes aus den zerrissenen Zellen ihre gelösten Bestandteile von den ungelösten zu trennen und dadurch die Enzyme wirklich von den Zellen zu isolieren. Wir haben (S. 254) gesehen, daß auf diese Weise E. Buchner das Alkoholgärungsenzym, die Zymase, dargestellt hat. Es liegt nahe, in diesem Verfahren die beste Methode zu sehen, um alle intrazellulären Enzyme zu isolieren. Daß wir auf dem Wege vorwärts kommen werden, lehren ja auch die Erfahrungen über das Milchsäure- und Essigsäureenzym (s. o.). Gerade sie haben übrigens gelehrt, daß nicht immer der dabei gewonnene klare Preßsaft, sondern der unlösliche Rückstand die Enzyme

enthält. Man darf außerdem zwei Punkte nicht außer acht lassen. Erstens ist die Buchnersche Methode vielleicht für manche Enzyme zu eingreifend. Schon die Wärme, die bei der Zerreibung entwickelt wird, könnte, um von der rein mechanischen Wirkung abzugehen, die Enzyme schädigen. Möglicherweise ergibt deswegen die von Macfadyen und Rowland vorgeschlagene und für die Gewinnung von Giften (§ 272) erprobte Abänderung, nach der die Zerreibung bei der Temperatur der flüssigen Luft erfolgen soll, in dem einen oder anderen Falle günstigere Resultate¹⁾. Zweitens könnten gleichzeitig mit den gesuchten Enzymen durch die Zerquetschung der Zellen auch Stoffe freigemacht werden, die deren Wirkung hemmen bzw. die sie zerstören²⁾. Sei dem, wie ihm wolle, sicher ist, daß weder die Herstellung von Preßsäften nach Art der Zymase noch die von Trockenpräparaten nach Art des Zymins (s. o.) uns bisher in allen Fällen, wo wir das Vorhandensein von Enzymen in den Kleinwesen vermuten durften³⁾, zum Ziel geführt haben. Hier wie früher (S. 206—208) machen wir aber kein Hehl daraus, daß uns diese teilweisen Mißerfolge keineswegs dazu berechtigen, unsere Vermutung, daß alle Stoffwechselvorgänge der Kleinwesen, wie der Zellen überhaupt, enzymatischer Natur seien, fallen zu lassen. Nur die Schwierigkeiten der Enzymdarstellung, die hoffentlich nicht auf die Dauer unüberwindlich sein werden, scheint uns dadurch bewiesen.

Schon vor Buchner hatten E. Fischer und Lindner die Zerreibung der Zellen mit Erfolg angewandt, um ein Rohrzucker invertierendes Enzym aus der *Monilia candida* zu gewinnen (S. 235). Sie erhielten aber auch die Invertase in Lösung, schon wenn sie die genannte Hefe durch scharfes Trocknen töteten und dann mit Toluolzusatz auf Rohrzucker wirken ließen, während die Zymase der Dauerhefe nicht aus dieser nach außen diffundierte. Ähnlich der Invertase der *Monil. candida* verhält sich die Maltase (§ 79) vieler Pilze und anscheinend auch das Harnstoffenzym (§ 195), ferner die Endotryptase (§ 166); sie sind sämtlich nur aus toten Zellen auszu ziehen, also als intrazelluläre Enzyme zu bezeichnen, obwohl sie zu den hydrolytischen oder Verdauungsenzymen gehören.

1) Ist bisher nicht der Fall gewesen bei den Versuchen, das licht-erzeugende Ferment der phosphoreszierenden Bakterien zu gewinnen (§ 238).

2) Vgl. auch § 242 über die Empfindlichkeit der Fermente.

3) Vgl. z. B. die Versuche F. Ehrlichs und Pringsheims, das Amylalkoholenzym zu gewinnen (S. 535).

Viele andere derartige Enzyme werden umgekehrt mehr oder weniger wahrscheinlich (s. o. S. 751) schon von den lebenden Zellen nach außen abgeschieden, lassen sich jedenfalls in den von diesen befreiten Kulturen ohne weitere Schwierigkeiten nachweisen, so die Diastase und Invertase, die proteolytischen und Labfermente der meisten Mikroorganismen. Man beseitigt die Zellen, wenn man sie nicht durch Antiseptika tötet, durch Absetzenlassen oder Ausschleudern oder durch Filtration mittelst eines Bakterienfilters (Porzellan oder Kieselgur). Von einigen Enzymen wird allerdings die Angabe gemacht, daß sie durch solche Filter, ja sogar durch Papier nicht hindurchgehen, so z. B. von Harnstoffenzymen (S. 597). Doch hat Miquel gefunden, daß auch dieses wenig widerstandsfähige Enzym filtriert werden kann, wenn man für Sauerstoffabschluß sorgt. Auch die Zymase des Preßsaftes geht durch Kieselgurfilter, wenn auch nur teilweise, hindurch, ebenso das Labenzym der Mikroorganismen, während das Lab der Pflanzen und Tiere im Filter zurückgehalten werden soll. Wahrscheinlich handelt es sich überall nur um quantitative Differenzen, die weniger auf ungleiche Größe der Enzymmoleküle, als auf einer eigentümlichen Oberflächenanziehung der filtrierenden Stoffe zu beruhen scheinen¹⁾.

Eine scharfe Grenze zwischen intrazellulären und extrazellulären Enzymen besteht wie gesagt nicht. Vielfach kann man sie ja sowohl außerhalb als innerhalb der Zellen nachweisen. Die gefundenen Unterschiede lassen sich eher dahin deuten, daß die einen Enzyme fester als die anderen den Zellen anhaften. Bei manchen intrazellulären ist die Bindung, wie wir oben an der Invertase und Maltase von Pilzen sahen, so locker, daß man sie durch Einbringen der Pilzrasen in destilliertes Wasser, und zwar verhältnismäßig unvermischt mit anderen Zellbestandteilen, gewinnen kann.

Die Enzyme mögen erhalten sein, wie sie wollen, um sie zu Versuchen zu verwenden, bedarf es fast regelmäßig eines geringen Zusatzes antiseptischer Mittel, um Störungen der Fermentierung durch nach-

1) Merkwürdiger Art sind die Verhältnisse, die Levy (Journ. of infect. diseases 1905, ref. Bull. Past. 1905, 265) bei verschiedenen Enzymen aufgedeckt hat: unter Druck lassen sie sich durch eine Kollodiummembran nicht filtrieren, dialysieren aber allmählich hindurch. Manche Enzyme (Ptyalin) verlieren ihre Wirksamkeit schon beim Filtrieren durch Papier, das sie fixiere und zwar an Glyzerin, aber nicht an Wasser abgebe. Lab werde durch Kieselgurfilter zurückgehalten, Trypsin fast vollständig, Pepsin teilweise, Ptyalin oder Takadiastase gar nicht. — Weiteres über die „Absorptionsanalyse“ von Fermenten s. bei Michaelis und Ehrenreich: Biol. Zeitschr. 10 (1908).

trägliche Entwicklung von eignen oder fremden Keimen zu vermeiden. Dafür hat sich je nach dem einzelnen Fall bald das Chloroform, bald Toluol, Thymol oder Senföl bewährt.

Man hat natürlich versucht, die in Lösung befindlichen Enzyme weiter zu reinigen. Es gelingt das auch fast überall bis zu einem gewissen Grade durch Fällung mit großen Mengen Alkohol oder Äther-Alkohol und andere Eiweißfällungsmittel, Wiederauflösen des Niederschlags, neue Fällung usw. Doch ist die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Enzyme gegen diese Fällungsmittel verschieden. die Maltase ist z. B. viel empfindlicher gegen Alkohol als die Invertase.

Eine Trennung der einzelnen Enzyme, die von denselben Mikroorganismen gebildet werden, ist nur in wenigen Fällen möglich. So kann man zwar die Invertase von der Maltase trennen, weil die letztere durch Alkohol bald zerstört wird, aber nicht umgekehrt die Maltase von der Invertase. Manchmal gelingt es durch Anwendung verschiedener Temperaturen, durch Filtrieren oder Dialyse das Ziel zu erreichen. Doch lassen sich allgemeine Regeln dafür nicht aufstellen. Der Erfolg ist wohl auch nur ein relativer (s. Invertase § 78 und Lab § 177). Die auf die eine oder andere Weise gewonnenen Enzyme können bei mäßiger Temperatur unter der Luftpumpe getrocknet werden, und sind dann nicht nur gegen Erhitzen wie bemerkt viel widerstandsfähiger, sondern behalten auch in diesem Zustande ihre Wirksamkeit viel länger als im feuchten.

Selbstverständlich bleiben alle möglichen anderen Stoffe bei solcher Darstellung der Enzyme mit diesen vergesellschaftet; besonders schwer lassen sich Eiweißkörper und die den Enzymen in ihren Eigenschaften recht nahe stehenden anderen Hilfsstoffe (§ 68), Eigengifte, Angriffs-, Reiz- und Impfstoffe (Kap. XVI und XVII) von ihnen trennen. So ist es denn selten gelungen, eine Enzymlösung zu erhalten, die keine Eiweißreaktion gegeben hätte. Immerhin sind einige solche Fälle beschrieben worden. So behandelte Osborne¹⁾ die Hefe zunächst mit Alkohol, dann nach dem Trocknen sechs Tage lang mit Chloroform, zog sie mit Wasser aus, fällte die Rohinvertase mit Alkohol, reinigte sie durch Dialyse unter Chloroformzusatz und fällte sie von neuem mit Alkohol. Das Präparat enthielt neben 1,8% Asche 44,5% C, 6,5% H und 6,1% N, entsprach also in seiner Zusammensetzung am nächsten dem Chitin, gab auch bei Hydrolyse mit Salzsäure einen reduzierenden Körper. Nach Salkowski²⁾ würde sich das erklären durch Beimischung

1) Zeitschr. physiol. Ch. 28. (1899).

2) Ebenda 31 (1900).

gummiähnlicher Stoffe; er selbst stellte aus Hefe ebenfalls Invertase her, die keine Eiweißreaktionen gab, aber neben Gummi noch 10—17% Stickstoff enthielt. Man würde daraus also den Schluß ziehen können, daß die reinen Enzyme diese Zusammensetzung hätten, die nicht viel von der der Eiweißkörper abweiche¹⁾, wenn man sicher wäre, daß nicht die Gegenwart anderer noch unbekannter Körper diese Zusammensetzung bedingte. Davon sind wir aber weit entfernt. Im Gegenteil lehren manche Erfahrungen, daß man trotz anscheinend gleicher Zusammensetzung ganz ungleichwertige Enzympräparate erhalten kann²⁾.

Daß es sich bei den Enzymen stets um große Moleküle handeln muß, kann man aus ihrer sehr geringen Dialysierbarkeit folgern. Diese ist für die Invertase und die proteolytischen Fermente der Mikroorganismen u. a. von Fermi³⁾ festgestellt worden.

Auch die Empfindlichkeit der Enzyme, besonders gegen Hitze, könnte man als einen Beweis ihrer eiweißartigen Natur betrachten, wenn nicht in dieser Beziehung sehr wesentliche Unterschiede bestünden (s. Labenzym) und wenn nicht einwandfrei festgestellt wäre, daß auch anorganische Katalysatoren im kolloidalen Zustande die gleiche Eigenschaft haben (s. u.).

Die mineralischen Bestandteile der Enzyme, die man früher nur als Verunreinigungen aufzufassen pflegte, haben wohl für sie eine ähnliche Bedeutung, wie die Salze für die Eiweißkörper. So beeinflussen sie anscheinend die Löslichkeit der Zymase. In einzelnen Fällen scheinen sie sogar für die Enzymwirkung ausschlaggebend zu sein. So fand Bertrand⁴⁾ in dem oxydierenden Enzym vieler Pflanzen, der Lakkase (vgl. § 159), einen Mangan Gehalt, dessen Höhe ziemlich parallel ging seiner Wirkungsfähigkeit. Das Ferment soll eine Verbindung des Manganoxyduls mit einer Proteinsubstanz sein und auf der Eigenschaft des MnO , sich zu MnO_2 zu oxydieren und den aufgenommenen Sauerstoff weiter zu übertragen, seine oxydierende Wirkung gründen. Das erinnert an eine ähnliche Leistung, die Spitzer⁵⁾ den Nukleoproteiden der Zellen schon früher zugesprochen hat. Sie sollten durch ihren Eisengehalt befähigt werden, Sauerstoff

1) Andere Analysen von Enzymen s. bei Duclaux, Microbiol. 2. 109. Der Stickstoffgehalt schwankt von 4—17%. Wo er gering ist, handelt es sich wohl stets um Beimischung von Kohlenhydraten. Nach Hefner (Zeitschr. physiol. Ch. 42, 1904) widersteht die Stickstoffsubstanz des Enzyms wochenlanger Trypsinverdauung.

2) Vgl. Zymase § 89.

3) Arch. f. Hyg. 14 (1892), vgl. Zeitschr. f. Hyg. 18, 110 (1894).

4) Compt. rend. 124. 1032 und 1355, 1897.

5) Pflügers Archiv 67. 615.

zu übertragen. Wir hätten hier also Zwischenzustände zwischen anorganischen Katalysatoren und Enzymen, wenn es sich nicht etwa bloß um eine Analogie mit der Hämoglobinwirkung handelt (s. u. Kofenzyme § 247).

§ 241. **Zeitlicher Verlauf der Fermentwirkung. Abhängigkeit von der Dichte der zu verändernden Stoffe.** Die Geschwindigkeit, mit der Rohrzucker durch verdünnte Säure unter Wasseraufnahme in Glykose und Fruktose verwandelt oder „invertiert“ wird, steht, wie schon Wilhelmy 1850 gefunden hatte, bei sonst gleichen Bedingungen (Säuremenge und Temperatur) im geraden Verhältnis zu der jeweilig vorhandenen Dichte des Rohrzuckers; so ist z. B. die in der Zwischenzeit invertierte Zuckermenge halb so groß in einer Zuckerlösung, die schon zur Hälfte invertiert ist. Man drückt das analytisch aus durch die Formel:

$$a) \quad - \frac{dC}{dt} = k \cdot C,$$

wo C die Dichte (Konzentration) des Zuckers, dC die Veränderung der Dichte in der unendlich kleinen Zeit dt , und K eine konstante Zahl, die Geschwindigkeitskonstante, bezeichnet. Durch Integration der Gleichung erhält man die folgende:

$$b) \quad -\log. \text{ nat. } C = K \cdot t + \text{Konstante.}$$

Sie sagt aus, daß sich die Inversionsgeschwindigkeit der Rohrzuckerlösung mit fortschreitender Inversion durch verdünnte Säure wie der Logarithmus der Dichte ändert. O'Sullivan und Thompson¹⁾ glaubten nachweisen zu können, daß sich auch die Umwandlung des Rohrzuckers durch Invertase ähnlich vollzöge, wie die durch anorganische Katalysatoren, d. h. die Inversionsgeschwindigkeit hätte, wenn man die Zeit als Abszisse und die Dichte als Ordinate auftrüge, die Form einer logarithmischen Kurve. Duclaux²⁾ kam dagegen zu dem Ergebnis, daß innerhalb gewisser Grenzen die Geschwindigkeit der Zuckerinversion durch die Invertase sich gleich bleibe, also unabhängig sei von der jeweiligen Dichte des noch unzersetzten Rohrzuckers. So war die absolute Menge des durch die gleiche Invertasemenge in einigen Stunden umgewandelten Zuckers annähernd gleich, ob man von einer 10-, 20- oder 40prozentigen Zuckerlösung ausging. Die Untersuchungen von Tam-

1) Journ. chem. Soc. Transact. 1890.

2) Traité de microbiol. 2. 136.

mann und namentlich von Henri¹⁾ haben dann gelehrt, daß die Verschiedenheit des zeitlichen Verlaufs der Zuckerinversion durch Säure und Enzyme darauf beruht, daß die Inversionsgeschwindigkeit bei der Enzyminversion zwar auch der jeweilig vorhandenen Rohrzuckerdichte proportional ist, daneben aber die Geschwindigkeitskonstante K im Verhältnis der umgewandelten Zuckermenge zunimmt. Die Enzymwirkung wird also stark beeinflusst durch die gebildeten Produkte²⁾.

Es scheint, daß sich auch andere Enzyme, wie die Diastase, das Trypsin, der Lab, die Zymase ähnlich verhalten, wie die Invertase, nur daß die Geschwindigkeitskonstante zum Teil mit dem Fortschreiten des Prozesses sinkt, nicht steigt. Jedenfalls verlaufen die enzymatischen Prozesse stets nach verwickelteren Gesetzen als die katalytischen³⁾. Daraus darf man natürlich noch nicht den Schluß ziehen, daß sie grundsätzlich verschieden zu beurteilen seien.

Auf die Grenzen, die der Fermentierungsprozeß schließlich findet durch Anhäufung der gebildeten Produkte, kommen wir weiter unten zurück (§ 251).

§ 242. Abhängigkeit der Wirkung von der Fermentmenge. Verbrauch der Fermente. Im allgemeinen gilt für die Fermentwirkungen wie für die katalytischen der Satz, daß sie zunehmen mit steigender Menge des Fermentes bzw. der Kontaksubstanz, und zwar erfolgt die Zunahme in vielen Fällen proportional der letzteren, so z. B. bei der Inversion durch Hefeinvertase, Lab, Diastase. Doch finden sich bei Enzymen und Katalysatoren auch gelegentlich andere Beziehungen. So soll die Menge der peptischen Produkte proportional den Quadratwurzeln der Pepsinmengen zunehmen⁴⁾.

Das wirkliche Mengenverhältnis zwischen Ferment und zersetzter Substanz ist gänzlich unbekannt, da wir das Ferment nicht rein darstellen und wiegen können. Doch lehrt schon der Vergleich zwischen dem Gewicht unserer unreinen Enzympräparate, daß gewöhnlich

1) Zeitschr. physikal. Chem. 39, 1901.

2) Vgl. dazu außer den obengenannten Darstellungen L. Michaelis, Biochem. Zentr. 7. 17, 1908.

3) Vgl. Herzog, Zeitschr. physiol. Chem. 41, 1904; Euler, ebenda 44. 1, 1905. Auf die mathematische Behandlung der Frage können wir hier nicht näher eingehen, wir verweisen dafür namentlich auf Bredig a. a. O. und Ostwalds Allgem. Chemie 2. Bd. 2. T.

4) J. Schütz, Zeitschr. physiol. Chem. 30, 1900.

sehr kleine Mengen des Ferments große Wirkungen hervorbringen. So soll ein Teil Labenzym oder Invertase mindestens hunderttausend Teile Kasein oder Rohrzucker verwandeln. Andere Enzyme zersetzen scheinbar viel geringere Stoffmengen, der Hefepreßsaft, die Zymase z. B. nicht viel mehr als sein Eigengewicht (auf Trockensubstanz berechnet) an Zucker. Doch ist im Hefepreßsaft das Enzym offenbar nur in verschwindend kleinen Spuren vorhanden (§ 89), so daß die Stoffmengen, die es zersetzt, in Wirklichkeit vielleicht verhältnismäßig ebenso bedeutend sind, als diejenigen, die das Labenzym umwandelt. Ähnliche Betrachtungen gelten wahrscheinlich auch für die sogenannten geformten Fermente, die wir vorläufig bloß in den lebenden Zellen zu fassen bekommen. Manche Forscher¹⁾ wollen umgekehrt aus dem Umstande, daß gewisse Substanzen im Stoffwechsel der Mikroorganismen nur in absolut und relativ kleinen Mengen entstehen, schließen, daß sie nicht durch fermentative Vorgänge entstanden sein könnten, sondern als „Stoffwechselprodukte“ aufzufassen seien. Wir erkennen, wie wir schon öfter betont, nicht die Berechtigung dieser begrifflichen Trennung an, werden vielmehr den Alkohol, die Milchsäure, Essigsäure, den Gummi, das Ammoniak, den Wasserstoff und die Kohlensäure, ob sie nun in großen oder kleinen Mengen nachweisbar sind, auf einen der bekannten Fermentprozesse, mögen es nun Spaltungen oder Synthesen, Reduktionen oder Oxydationen sein, beziehen. Alle Stoffwechselvorgänge sind für uns eben Fermentierungen. Daß wir dazu wirklich ein Recht haben, sehen wir auf Schritt und Tritt. Die Fähigkeit, Alkohol oder Milchsäure zu erzeugen, ist z. B. eine Eigenschaft sehr vieler Pilze und Bakterien, ja vielleicht aller Organismen überhaupt; in solchem Grade entwickelt, daß man sie als Gärung bezeichnet und technisch verwerten kann, finden wir sie aber nur bei wenigen Arten; eine scharfe Grenze läßt sich aber nicht ziehen zwischen solchen, die Gärung erregen und solchen, die es nicht tun. vielmehr ist der Übergang ein ganz allmählicher, wahrscheinlich wesentlich nur dadurch bedingt, daß verschieden große Mengen der entsprechenden Enzyme gebildet werden. Die zersetzte Stoffmenge mag noch so gering sein, stets wird man voraussetzen dürfen, daß die zugehörige Enzymmenge um ein Vielfaches hinter ihr zurücksteht. Das Mengenverhältnis selbst ist uns im einzelnen unbekannt, wir haben aber keinen Grund anzunehmen, daß es gerade ein feststehendes sein muß. Auch in dieser Beziehung besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen den Katalysatoren und den organischen Fermenten. Da-

1) Vgl. z. B. G o t s c h l i c h in F l ü g g e s Mikroorganism. 3. Aufl. 1. Bd., 1896 und in K o l l e - W a s s e r m a n n, Handb. 1, 1903.

gegen könnte ein solcher darin gefunden werden, daß die letzteren im allgemeinen leichter verbraucht werden, als die ersteren, daher immer wieder von neuem durch die lebenden Zellen erzeugt werden müssen. Dieser Verbrauch der Fermente ist eine Erscheinung, die nicht geleugnet werden kann, die aber verständlich wird, wenn wir die geringe Widerstandsfähigkeit dieser Stoffe gegen schädliche Einflüsse aller Art bedenken. In den lebenden Zellen sowohl wie in unseren Fermentierungsversuchen werden wir außer anderen Schädlichkeiten (Säuren, Alkalien, Giften) namentlich einen Umstand berücksichtigen müssen: die gegenseitige Schädigung der Fermente. Durch die Zymaseforschungen bekannt geworden ist besonders die Vernichtung der Zymase durch die Endotryptase (§ 89). Auch Oxydasen könnten vielleicht eine ähnlich schädliche Rolle spielen¹⁾. Stellt man sich diese verschiedenen Einflüsse vor, so ist man wohl nicht genötigt, von der bei der Definition der Fermente ausgesprochenen Annahme abzuweichen, daß die Fermente selbst nicht in den chemischen Produkten, die sie erzeugen, mehr als vorübergehend (s. u. § 249) aufgehen. Im übrigen fehlt ein strenger Beweis gegen die Möglichkeit, daß die Fermente sich auch allmählich nicht nur während ihrer Wirksamkeit, sondern durch ihre Leistungen selbst verbrauchen²⁾.

§ 243. Untersuchungsverfahren. Die Feststellung der in den vorhergehenden Abschnitten besprochenen quantitativen Beziehungen zwischen Fermentmenge, Dichte des zersetzbaren Stoffes, Menge des zersetzten Stoffes und des zeitlichen Verlaufs der Fermentierung unterliegt vielen Schwierigkeiten. Am größten sind sie natürlich bei den geformten Fermenten, d. h. den lebenden Mikroorganismen, da wir hier zwei außerhalb der Sache selbst liegende Einflüsse mitberücksichtigen müssen, die Ernährung und das Wachstum. Wollten wir nämlich beides oder auch nur das Wachstum ausschließen, so erhielten wir gewöhnlich ganz unregelmäßige Verhältnisse durch die Entartungs- und Absterbeerscheinungen, die sich dabei zeigen würden. Es bleibt daher nichts übrig, als Ernährung und Wachstum mit zu berücksichtigen und die fermentativen Zelleistungen geradezu in Beziehung zu setzen zu der neugebildeten Zellsubstanz. In den Abschnitten über die Ausnützung und den Verbrauch der Nahrung (§ 232—236) und über die Größe der äußeren und inneren Atmung (§ 220 ff.) haben wir die bisher ermittelten Zahlen beigebracht. Sie sagen uns über die Fragen, die uns hier beschäftigen, recht wenig. Man könnte die Versuche aber wohl so

1) Wir möchten auf derartige Wirkungen auch die Schwierigkeiten zurückführen, die sich der Darstellung mancher Enzyme entgegenstellen (vgl. S. 754).

2) Vgl. über die Abnahme der Wirksamkeit des Ferments bei der Labung Reichel und Spiro, Hofmeisters Beitr. 6, 1905.

einrichten, daß wir etwas mehr erfahren. Besonders verdiente die Atmung unter verschiedenen Bedingungen, z. B. bei verschiedener Konzentration des Atmungsmaterials, näher studiert zu werden, um so mehr, da es hier am ehesten möglich ist, den Einfluß des Wachstums auszuschalten¹⁾. Die Ergebnisse Puriewitschs²⁾ an Schimmelpilzen (S. 674) scheinen zunächst dafür zu sprechen, daß die Atmungsgröße bei Schimmelpilzen in hohem Grade unabhängig sei von der Konzentration der Zuckерlösung, in der sie leben. Das würde übereinstimmen mit der Beobachtung Duclauxs (S. 758) über die Wirkung der Invertase. Die Schwierigkeiten der Untersuchung sind geringer, wenn wir mit isolierbaren Enzymen arbeiten können, doch wirken hier die massenhaften Beimischungen fremder Stoffe, z. B. der Glykogen- und Eiweißgehalt des Hefepreßsafts und die Veränderlichkeit der Enzyme recht störend. Dafür haben wir gerade bei der Zymasewirkung den Vorteil, durch Wägung der Kohlensäure sehr exakt die Menge der zersetzten Substanz bestimmen zu können, was bei anderen Enzymwirkungen, z. B. den diastatischen und namentlich den tryptischen, schwieriger ist.

Um die enzymatischen Vorgänge miteinander quantitativ zu vergleichen, ist es am besten, zum Ausgangspunkt zu nehmen die Zeiten, die nötig sind, um gleiche Wirkungen zu erzielen; z. B. stellten O'Sullivan und Thompson (S. 758) für verschiedene Mengen von Invertase die Zeit fest, die erforderlich war, um eine gegebene Rohrzuckerlösung soweit zu invertieren, daß sie im Polarisationsapparat keine Drehung verursachte³⁾. Sie fanden dabei, daß die Minutenzahl, multipliziert mit der Enzymmenge, bei gleicher Temperatur immer dieselbe Zahl ergab, mit anderen Worten, daß die Inversionsgeschwindigkeit proportional war der Menge der Invertase. Dasselbe Gesetz findet man, wenn man die Zeiten vergleicht, die zur Gerinnung einer Kaseinlösung (Milch) nötig sind bei verschiedenen Labzusätzen. Auf die Wahl des richtigen Zeitpunktes der Reaktion kommt viel an; im allgemeinen soll man nicht abwarten, bis die Enzymleistung zum Stillstand gekommen ist, z. B. der Rohrzucker vollständig invertiert, die Stärke so weit wie möglich verzuckert ist, weil sich in den letzten Stadien der Umwandlung störende Einflüsse kräftiger bemerkbar machen (s. u. § 251).

§ 244. Einfluß der Temperatur auf Fermente und Fermentwirkung. Die Fermentwirkungen sind in ihrer Stärke abhängig von der Temperatur, und zwar zeigt jedes Ferment besondere Verhältnisse. Durch niedrige Temperatur werden die Wirkungen ganz aufgehoben, nehmen dann bis zu einem gewissen Punkte zu und gehen bei höherer Temperatur wieder zurück. Die höchsten und niedrigsten Temperaturen unterscheiden sich aber dadurch, daß die ersteren das

1) Umgekehrt würden wir gerade durch Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit die Wirksamkeit der Wachstums- und synthetischen Enzyme feststellen können. Vgl. über die Wachstumsgesetze der Bakterien und namentlich der Schimmelpilze § 36.

2) Jahrb. wissensch. Botan. 35, 1900.

3) Das entspricht einer Inversion von 74% des Rohrzuckers, da diese bei + 66,5 beginnt, bei — 21,4 beendet ist und proportional der Drehung verläuft.

Ferment allmählich zerstören, während die letzteren es bewahren helfen. Bei den geformten (lebenden) Fermenten fällt die günstigste Wirksamkeit gewöhnlich zusammen mit dem besten Wachstum, bei den Enzymen liegt sie dagegen im allgemeinen höher, so daß man durch Anwendung hoher Temperaturen in vielen Fällen geradezu die Möglichkeit hat, das Wachstum auszuschalten, ohne die fermentative Leistung zu vernichten (s. o. S. 753). Von den meisten anorganischen Katalysatoren (z. B. den Säuren) unterscheiden sich aber die Enzyme dadurch, daß sie nicht unbegrenzt mit steigender Temperatur ihre Wirkung vermehren, sondern diese von einer gewissen Grenze an verringern und schließlich aufgeben, weil sie nicht widerstandsfähig genug gegen Hitze sind. Nur die kolloidalen Metalle Bredigs erweisen sich auch empfindlich gegen Temperaturen, die sich 100°C nähern. Zahlenmäßig festgestellt haben O'Sullivan und Thompson (S. 758) die Leistungsfähigkeit der Hefeinvertase bei verschiedenen Temperaturen. Sie fanden, daß zur Inversion einer Zuckerlösung¹⁾ nötig waren

bei 0°C	1440	Minuten,	bei 55°C	51,8	Minuten
„ $15,5^{\circ}\text{C}$	398	„	„ 60°C	80,4	„
„ $29,5^{\circ}\text{C}$	155,5	„	„ 70°C	keine	Inversion.
„ 45°C	73,8	„			

Die kräftigste Inversion findet bei der Invertase zwischen 52 und 53°C statt. Labenzym — allerdings tierisches — hat nach Fleischmann²⁾ bei 15° keine Wirkung, koaguliert

bei 20°	in 32	Minuten,	bei 40°	in 6	Minuten,
„ 25°	„ 14	„	„ 45°	„ 6,7	„
„ 30°	„ 8,5	„	„ 50°	„ 12	„
„ 35°	„ 7	„			

Die Labwirkung ist also am stärksten bei einer verhältnismäßig niedrigen Temperatur, etwa bei 41° . Für die Urease bestimmte sie Miquel (S. 598) auf 49 — 50° .

Die genaue Feststellung des Einflusses der Temperatur auf die Enzyme stößt insofern auf Schwierigkeiten, als die Wirkung der Temperatur eine verschiedene ist, je nach der Lösung, in der sich das Enzym befindet, und

1) Bis zum 0-Punkt des Polarisationsinstruments.

2) Das Molkereiwesen (nach Duclaux). Vgl. auch die Zahlen bei Fleischmann, Milchwirtschaft, 1908, S. 280.

als die Temperatur auch die umzusetzenden Stoffe selbst beeinflusst. So leitet z. B. schon gelinde Erhitzung an sich die Zersetzung des Harnstoffs ein, und ebenso wird dadurch die Gerinnbarkeit der Milch erhöht. Durch Kontrollen, die namentlich bei dem Studium der Harnstoffvergärung nötig sind, schützt man sich am besten gegen Fehler, die hieraus entstehen. Bedeutsamer sind unter Umständen die Veränderungen, die Säuren oder Alkalien bei höherer Temperatur in dem zersetzbaren Material hervorrufen. Selbst bei 37° sah z. B. Kalischer¹⁾ eine Einwirkung des von Bakterien aus Kasein abgespaltenen Ammoniaks auf Milchzucker. Für die Verzuckerung der Stärke, die Inversion der Disaccharide kommen namentlich die Säuren in Betracht, wenn auch zugegeben werden kann, daß die organischen Säuren in den Temperaturgrenzen, die in diesen Versuchen innegehalten wurden, wenig leisten können. Bei weitem wichtiger ist die Tatsache, daß die Enzyme in reinen Lösungen viel weniger widerstandsfähig gegen erhöhte Temperaturen sind, als wenn sie in Wirksamkeit sind, d. h. zersetzbare Stoffe zu ihrer Verfügung haben. So fanden O'Sullivan und Tompson, daß die Hefeinvertase in zuckerfreier Lösung schon durch Temperaturen über 30° beginnt, an Wirksamkeit einzubüßen und bei 50—55° völlig zerstört wird, während sie mit Zucker erhitzt zwischen 15 und 60° ziemlich unverändert bleibt und erst bei 75° vernichtet wird (vgl. S. 236). Ebenso ist die Urease in reinem Zustande (d. h. im Kulturfiltrat) 2 Stunden lang erhitzt schon empfindlich geschädigt durch eine Temperatur von 50°, die bei Gegenwart von Harnstoff für ihre Leistung am günstigsten ist. 10 Minuten lange Erhitzung auf 70—75° vernichtet sie vollständig.

Die Widerstandsfähigkeit der Enzyme wird auch herabgesetzt durch Verdünnung seiner Lösung; so wird nach Biernacki²⁾ unfiltrierte Speicheldiastase zerstört erst bei 75°, filtrierte bei 70°, 10 mal mit Wasser verdünnte bei 60°. Durch Zufügung von Salzen oder Pepton kann man die Vernichtungstemperatur wieder auf 65—70° erhöhen³⁾. Es folgt daraus, daß man aus der ungleichen Widerstandsfähigkeit von Enzymen gegen hohe Temperaturen nicht ohne weiteres den Schluß ziehen darf, daß man verschiedene Enzyme vor sich hat. Immerhin haben wir in den vorhergehenden Kapiteln dieses Werkes zahlreiche Beispiele dafür gehabt,

1) Arch. f. Hyg. 37. 36, 1900.

2) Zeitschr. f. Biol. 28.

3) Andere Beispiele s. bei Buchner, Arch. f. Hyg. 17. 138, 1893.

daß wirklich derartige Unterschiede zwischen Enzymen bestehen, die in ihren Wirkungen nahe miteinander verwandt sind.

Während im allgemeinen die „tödliche“ Temperatur für die Enzyme in der Nähe von $60-70^{\circ}$ liegt, gibt es solche, die weit davon abweichen. Besonders empfindlich ist die Zymase, die schon bei Zimmertemperatur in einigen Tagen unwirksam wird, allerdings vielleicht nur deswegen, weil sie dem schädlichen Einfluß des neben ihr im Hefepreßsaft enthaltenen verdauenden Enzyms erliegt (§ 89). Das Gegenstück dazu ist das Labenzym des *Bac. prodigiosus*, das nach Gorini (S. 547) erst durch halbstündige Erhitzung auf 100° zerstört wird. Bemerkenswert ist auch das Verhalten der Invertase, die wir S. 236 besprachen: solange das Enzym in den Zellen steckt, widersteht es der Kochhitze, wenn es aus ihnen ausgezogen ist, nicht! Vielleicht¹⁾ erklärt sich diese letztgenannte Tatsache daraus, daß die Enzyme, wenn sie wasserarm sind, gegen Erhitzung widerstandsfähiger sind. Im gutgetrockneten Zustande hält die Zymase ja Temperaturen von 85° stundenlang aus. Für die meisten trockenen Enzyme werden sogar Temperaturen von $100-150^{\circ}$ als unschädlich angesehen. Eiweißstoffe verhalten sich bekanntlich ähnlich, sie werden in wasserarmem Zustande nicht so leicht „denaturiert“, wie im feuchten. Auch sonst ist das Trocknen der Enzyme das beste Mittel, ihre Wirksamkeit zu konservieren. Nur muß man natürlich die Vorsicht gebrauchen, das Trocknen bei Temperaturen vorzunehmen, die für das Enzym unschädlich sind. Am besten gelingt das unter der Luftpumpe bei $20-40^{\circ}$.

Im Gegensatz zu den hohen Temperaturen sollen auch die niedrigsten Temperaturen der flüssigen Luft die Enzyme nicht schädigen²⁾. Darauf beruht die Berechtigung der Darstellungsmethode Macfadyens und Rowlands (S. 754). Ausnahmen sind aber auch hier wohl nicht ausgeschlossen.

§ 245. Einfluß des Lichts und der Elektrizität. Schon Downes und Blunt³⁾ haben erkannt, daß Invertinlösungen durch das Sonnenlicht allmählich ihre Wirksamkeit einbüßen. Trypsin und Pepsin verhalten sich nicht anders, und die proteolytischen Enzyme der Bakterien schließen sich ihnen an (Fermi und Pernossi⁴⁾).

1) Vgl. übrigens das § 250 über Zymogene Gesagte.

2) d'Arsonval, Compt. rend. biol. 1892, 808; Pozersky, ebenda 1900, 714.

3) Proceed. roy. Soc. 26 und 28, 1877 und 1878.

4) Zeitschr. f. Hyg. 18, 1894.

D u c l a u x ¹⁾ fand weiter, daß dieser schädliche Einfluß auf eine Oxydation zurückzuführen ist, denn er fehlte im luftleeren Raum. Darum ist er auch in verschlossenen Flaschen im allgemeinen recht gering (E m m e r l i n g ²⁾). G r e e n ³⁾ wies dann weiter durch Versuche mit Speicheldiastase nach, daß die violetten und ultravioletten Strahlen des Spektrums es sind, denen die Schädigung zuzuschreiben ist (vgl. S. 153). Merkwürdigerweise haben andere Teile des Spektrums, namentlich die roten Lichtstrahlen, eine entgegengesetzte Wirkung: sie erhöhen die Fermentleistung. G r e e n will das damit erklären, daß der Speichel eine Vorstufe der Diastase enthalte, ein Zymogen, das durch die roten Strahlen in das Enzym übergeführt werde (s. u. § 250).

In den letzten Jahren ist namentlich durch T a p p e i n e r eine Reihe von Tatsachen bekannt geworden, die beweisen, daß gewisse fluoreszierende Farbstoffe eine „sensibilisierende“ Wirkung ausüben, indem sie den Lichteinfluß steigern. Wir haben diese Beziehungen, die auch, aber in weniger ausgesprochenem Maße für die lebenden Mikroorganismen gelten, schon im § 45 erwähnt. Dort sind auch die Wirkungen der Elektrizität auf die Bakterien und ihre Produkte besprochen.

§ 246. Einfluß von Säuren und Alkalien. In den vorangehenden Kapiteln dieses Werkes haben wir beständig auf die Bedeutung hinweisen müssen, die die Reaktion der Nährflüssigkeit auf die Wirkung der Fermente ausübt. Für jedes Ferment oder Enzym gibt es eine g ü n s t i g s t e R e a k t i o n. Bei der Diastase, Invertase, Endotryptase und dem Lab ist es eine gewisse Menge Säure, bei den tryptischen Enzymen und merkwürdigerweise auch bei der Zymase (S. 270) ist es das Alkali, das die Fermentierung begünstigt. Letztere Tatsache steht in Widerspruch mit der Beobachtung, daß lebende Hefe besser gärt bei saurer als bei alkalischer Reaktion. E. B u c h n e r fand allerdings, daß das Endergebnis bei der zellfreien Gärung doch ein ebenso gutes war, wenn er Säure, als wenn er Alkali zusetzte.

Was die Wirkung der einzelnen Säuren anlangt, so ist sie von F e r n b a c h ⁴⁾ bei der Aspergillus-Invertase genau studiert worden. Er fand folgende Zahlen für die günstigste Dichte der Säuren bei gleichzeitiger Wirkung von Säure und Enzym und für die Menge des dadurch invertierten Zuckers:

1) Microbiologie 1883.

2) Ber. chem. Gesellsch. 1901. 3811.

3) Philos. Transact. Roy. Soc. 1897.

4) Annal. Pasteur 1889. 473 und 531. Vgl. § 78.

Art der Säure	Günstigste Dichte der Säure in		Zuckermengen in mg, invertiert durch		
	‰	mg Mol.	Säure u. Enzym	Säure allein	Enzym allein
Schwefelsäure	0,050	0,25	313	7	305
Oxalsäure	0,066	0,72	300	0	300
Weinsäure	1,000	6,7	400	86	314
Bernsteinsäure	2,000	17,0	342	37	305
Milchsäure	5,000	55,0	415	122	293
Essigsäure	10,000	166,0	379	72	307

Bei Gegenwart von Milchsäure und Weinsäure erhält man also die kräftigste Inversion durch das Enzym.

Die vorletzte Spalte der Tafel gibt die Zuckermenge an, die durch die angegebene Säuremenge, wenn sie allein wirkt, invertiert wird. Eine strenge Regel, etwa eine Beziehung zu dem Grade der Dissoziation der Säure, läßt sich daraus nicht ableiten, wenn auch die stärker dissoziierten Säuren in geringen Mengen am wirksamsten sind. Die letzte Spalte ist berechnet aus den Zahlen der vorletzten und drittletzten Spalte durch Subtraktion, sie lehrt, daß die Wirkung, die dem Enzym allein zuzuschreiben ist, ungefähr dieselbe ist, ob man diese oder jene Säure benutzt.

Die obigen Zahlen gelten übrigens nur für ein bestimmtes Invertasepräparat, für andere können sie, wie Fernbach gefunden, sehr erheblich abweichen. Auch steigen nach O'Sullivan und Thompson (S. 758) die nötigen Säuremengen, wenn größere Mengen des Enzyms zur Verwendung gelangen, oder wenn die Temperatur der Reaktion herabgesetzt wird. So braucht man z. B. fünfmal mehr Schwefelsäure bei 15° als bei 56°, der Temperatur der Fernbach'schen Versuche.

Die Bedeutung des genannten „Säureoptimums“ ist keine große, weil die Menge des invertierten Zuckers durch die Verschiedenheit der Säuremengen in keinem Fall erheblich beeinflußt ist; erst wenn die Reaktion eine alkalische wird, werden die Ergebnisse der Inversion verhältnismäßig viel schlechter, sinken z. B. auf die Hälfte und bei höheren Graden auf den zehnten Teil.

Die Widerstandsfähigkeit der reinen Enzymlösungen gegenüber Säuren und Alkalien bewegt sich nach derselben Richtung: die Invertase wird bei alkalischer Reaktion schneller zerstört, bei neutraler langsam und bei saurer nur wenig.

§ 247. Einfluß von Salzen, Metalloxyden und anderen Bestandteilen des Nährbodens. Kofermente. Am größten ist

wie wir S. 557 gesehen haben, der Einfluß von Salzen auf die Wirkung des Labenzym. Beim Fehlen von Kalk oder anderen alkalischen Erdsalzen tritt wenigstens die sichtbare Gerinnung des Kaseins nicht ein. Umgekehrt verzögert die Anwesenheit von Salzen oder Alkalien oder größerer Mengen der Erdalkalien die Gerinnung¹⁾. Die Wirkung derselben Salze auf andere Enzyme kann eine entgegengesetzte sein²⁾. Allgemeine Regeln lassen sich dafür nicht aufstellen.

Manche oxydativen Vorgänge werden durch Gegenwart von Metallen (Eisen, Mangan) oder Metallverbindungen, wie wir schon S. 757 sahen, begünstigt, die mancher Oxydasen vielleicht sogar dadurch erst vermittelt (S. 466). In vielen Fällen sind die Bestandteile, die die Oxydation (z. B. die Zuckerverbrennung) begünstigen, noch nicht genau bekannt, sondern man weiß nur, daß sie in der Asche aller möglichen organischen Stoffe, z. B. im Blut, Eiter, Samen, Blättern (Zigarren) u. dgl. vorhanden sind (Schade³⁾). In den Versuchen Pitoffs⁴⁾ war die Spur fremder Beimengungen, die gewöhnliches destilliertes Wasser enthält, genügend, um die Oxydation des Sulfit zum Sulfat gegenüber der Reaktion im allerreinsten destillierten Wasser hundertmal zu beschleunigen. Es ist wohl möglich, daß in ähnlicher Weise auch die fermentativen Vorgänge beeinflußt werden. So hat man neuerdings gefunden, daß gewisse Stoffe im Hefepreßsaft die Alkoholgärung befördern (S. 257 und 258). Teils handelt es sich um bekannte Stoffe, wie Lezithin und sekundäres Natriumphosphat, teils um unbekannte. Der von Bertrand ursprünglich für die Oxydasen eingeführte Name „Kofermente“ (Koenzyme) oder auch „Zymozitatoren“ wäre wohl zur Bezeichnung geeignet. Vorläufig ist es gut, sie nicht mit den „Zwischenkörpern“ (§ 249) zusammenzuwerfen.

Von einer die Fermentwirkung steigern den Leistung verdünnter Gifte (§ 248) ist bisher nichts bekannt geworden. Es scheint also keine ähnliche „Reizwirkung“ derselben, wie wir sie in § 55 bezüglich der lebenden Keime erörtert haben, zu bestehen. Immerhin bedarf die Frage wohl noch einer genaueren Behandlung. Es könnte sich auch hier mehr um quantitative Unterschiede handeln, als um einen grundlegenden Gegensatz. Über den scheinbaren Ausnahmefall einer Reizwirkung, der das Chinin betrifft, s. u. § 248.

Durch die Gegenwart gallertiger oder schleimiger Stoffe (Gelatine, Agar, Kieselsäure) sollen chemische Reaktionen und

1) Vgl. eine genaue Tafel bei Duclaux 2, 306.

2) Duclaux 2, 375, vgl. Moraczewski, Pflügers Arch. 69, 1897.

3) Münchn. med. Woch. 1905, 36.

4) Zeitschr. f. physikal. Chemie 45.

Enzymwirkungen nicht behindert werden, wie man früher wohl angenommen hat¹⁾. Doch hemmen nach M. H a h n Zucker oder Glyzerin in höherer Dichte (50%) das proteolytische Enzym im Hefepreßsaft (§ 166). Eindicken des Saftes auf den dritten Teil seines Volumens hat den gleichen Erfolg. Auch B r ä u n i n g ²⁾ findet, daß „indifferent“, in Wasser lösliche Stoffe die Fermentierung verlangsamen oder aufheben, so z. B. Glyzerin oder Harnstoff die Wirkung der Invertase und Zymase, des Emulsins, Pepsins und Trypsins, Traubenzucker und Rohrzucker die des Pepsins, während Milchzucker die Inversion nur wenig hindert. Wahrscheinlich wird in jedem Falle die Widerstandsfähigkeit der Enzyme, z. B. gegen Hitze, durch alle derartigen Stoffe, wenn sie in irgend erheblicher Menge vorhanden sind, beeinflußt. Umgekehrt erklärt sich dadurch vielleicht die günstige Wirkung von Glyzerin oder Eiweißzusätzen auf die Gärkraft verdünnten Preßsaftes (B u c h n e r und M e i s e n h e i m e r S. 270).

§ 248. Einfluß von Giften. Zymoparalysatoren. Wir haben im § 240 gesehen, daß keimwidrige Stoffe dazu benutzt werden, um in Kulturen oder Aufschwemmungen die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen auszuschalten, ihre Enzymwirkungen aber zu erhalten; ferner um Enzymlösungen, die auf irgendeine Weise hergestellt sind, vor dem nachträglichen Eindringen und Überwuchern fremder Keime zu schützen. Sind die antiseptischen Stoffe zu stark konzentriert, so schädigen sie regelmäßig allerdings auch die Enzyme. Es besteht also nur ein quantitativer Unterschied in dem Verhalten des lebenden Protoplasmas und der Enzyme gegenüber den Giftstoffen, immerhin ist das erstere empfindlicher als die letzteren. Doch ist das wohl kein allgemeingültiges Gesetz. Wir können uns ganz gut vorstellen, daß gewisse fermentative Leistungen nur deswegen noch nicht haben isoliert werden können, weil das Ferment, das sie vermittelt, Giften ebenso schnell erliegt, als die Lebens- und Wachstumsfähigkeit des Protoplasmas. Durch diese Annahme würde der wesentliche Unterschied zwischen geformten und ungeformten Fermenten, d. h. Enzymen, aus dem Wege geräumt sein. Daß dem wirklich so ist, dafür spricht auch die Erfahrung, daß die einzelnen Enzyme selbst sich gegen die Antiseptika einschließlich der Fällungsmittel, wie Alkohol, oft recht verschieden verhalten³⁾. Überall zutreffende Regeln über die Wirkung der einzelnen Gifte auf die Fer-

1) Vgl. R e f o r m a t s k y , Zeitschr. phys. Chem. 7, 1891; L e v i . Chem. Zentralbl. 1900. 2. 658.

2) Zeitschr. physiol. Chem. 42, 1904.

3) Vgl. über die z. T. entgegengesetzte Beeinflussung der Zymase und Endotryptase S. 269, 270 u. 496 und weiter unten im Text.

mente lassen sich nicht geben; im ganzen bewähren sich schwache und flüchtige Antiseptika wie Chloroform, Benzol, Toluol, Thymol, Äther, auch ätherische Öle, z. B. Senföl, am besten. Sie werden auch deswegen am meisten angewandt, weil es durch einfaches Abdunsten gelingt, sie aus den Kulturen der Enzymlösungen nötigenfalls zu entfernen und dadurch ihre Einwirkungszeit abzukürzen, Nachwirkungen unmöglich zu machen. Das viel benutzte Chloroform hat aber einige Eigentümlichkeiten, es ist z. B., wie wir S. 239 gesehen, bei der Darstellung der Hefemaltase nicht zu gebrauchen, wohl bei der der Aspergillusmaltase. Der Einfluß des Chloroforms bei der sogenannten Autolyse, der Selbstverdauung von Organen und Bakterien, ist nach M a l f i t a n o ¹⁾ verschieden, je nachdem gleichzeitig Sauerstoff zutreten kann oder nicht: nur im ersteren Falle läßt es das oder die autolytischen Fermente zur Wirkung gelangen, im geschlossenen Gefäße hemmt es dagegen die Autolyse. Bei Xylol, Toluol, Phenol, Thymol, schwachem Alkohol und Zyankalium ist der Unterschied nicht zu merken, sie stören die Autolyse nicht; Sublimat, Fluornatrium und Formaldehyd hemmen sie mit oder ohne Luftzutritt. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhange, daß nach M. H a h n Sauerstoffzutritt die Wirkung der Hefe-Endotryptase, die den autolytischen Fermenten nahesteht, eher zu fördern scheint. Die Erklärung für diese Verschiedenheiten ist vielleicht in dem Umstande zu suchen, daß verschiedene, auch oxydierende Fermente (vgl. Selbstverbrennung § 226) an der Autolyse beteiligt sind, die durch die einzelnen Gifte ungleich beeinflußt werden.

Manche Antiseptika, wie die Metallsalze (Sublimat) und Karbolsäure, sind weniger geeignet, zur Darstellung und Konservierung der Enzyme zu dienen, weil sie in eiweißreichen Lösungen (Zymase) Niederschläge erzeugen und so das Enzym mit zu Boden reißen. In dünnen Lösungen ist aber namentlich Karbolsäure auch hier anwendbar. Man darf sagen, daß es kein Antiseptikum gibt, das nicht unter Umständen sich brauchbar erwiese. Das gilt auch, wie wir S. 496 gesehen, von dem Formaldehyd, dem man aus theoretischen Gründen²⁾ eine fermentzerstörende Eigenschaft zugeschrieben hat. So wird z. B. die Hefeendotryptase erst durch 0,5% Formaldehyd nachteilig beeinflußt. Auch in stärkeren Verdünnungen kann freilich das Formaldehyd die Fermentwirkung beeinflussen, wenn es Gelegenheit gehabt hat, längere Zeit vorher auf die zersetzbaren

1) Annal. Pasteur 1902. Vgl. § 166.

2) L ö w, Science 1899. 955 (nach O p p e n h e i m e r, Fermente S. 27).

Stoffe, insbesondere die Eiweißstoffe, einzuwirken¹⁾. Aber wir bemerkten ja schon, daß andere Antiseptika sich unter Umständen ähnlich verhalten, ja, daß sie alle in gewisser Dichte die Fermentwirkung ungünstig beeinflussen.

Die für höhere Tiere besonders giftigen Stoffe²⁾ verhalten sich gegenüber den Enzymen sehr verschieden. Die Blausäure z. B. hebt in 1%iger Lösung die Wirkung der Zymase völlig auf, doch nur vorübergehend, denn wenn sie durch Luftüberleitung verjagt wird, zeigt sich das Enzym noch gärkräftig. Ähnliche Konzentrationen des Gases beeinflussen andere Enzyme, z. B. die Hefeendotryptase, nicht oder wenig.

Sehr interessant ist, daß auch anorganische Katalysatoren, die kolloiden Metalle Bredigs, nicht nur durch Blausäure, sondern auch durch Schwefelwasserstoff, Sublimat und andere „Protoplasma-gifte“ in ihrer Tätigkeit gehemmt werden.

Auch der Alkohol, der ja bei der Darstellung der Enzyme eine große Rolle spielt, wirkt auf viele derselben auf die Dauer zerstörend ein, namentlich auf die Maltase (S. 238). Daraus ist die Regel abzuleiten, bei der Darstellung seine Wirkungszeit möglichst abzukürzen. In schwächerer Konzentration hemmt er gewöhnlich die enzymatischen Leistungen, z. B. die der Endotryptase, schon von 5% an. Die Zymase verursacht noch bei Zusatz von 15% Alkohol Gärung, wenn auch in stark verlangsamten Zeitmaß, während bekanntlich die lebende Hefe schon bei 10—14° zu gären aufhört.

Eine besondere Stellung nimmt das Wasserstoffsuperoxyd ein. Es wirkt antiseptisch auf lebende Mikroorganismen, Enzymlösungen zersetzen ihn dagegen mehr oder weniger kräftig zu Wasser und Sauerstoff. Man hat diese Fähigkeit früher als eine den Enzymen selbst innewohnende betrachtet, neuerdings ist es aber wahrscheinlich geworden, daß man es hier mit der Wirkung eines besonderen, häufig beigemengten, aber trennbaren Ferments zu tun hat, das man mit Löw³⁾ Katalase nennt (§ 160). Sie zeichnet sich durch eine besondere Empfindlichkeit gegen Blausäure aus.

Die Enzyme werden außer durch Gifte natürlich auch durch andere chemische Mittel zerstört. Dahin gehören Alkalien und Säuren (§ 246) namentlich in stärkerer Dichte, unter Umständen aber auch andere Enzyme. Das bekannteste Beispiel dafür liegt im Hefepreßsaft vor: die Endotryptase schädigt besonders bei höheren Temperaturen das

1) Vgl. Löwenstein, Zeitschr. f. Hyg. 48. 239, 1904.

2) Über Alkaloide vgl. Nasse, Pflügers Archiv 11. 1875; Schulzenstein, Zeitschr. physiol. Chem. 18, 1894.

3) Kochs Jahresber. 1900. 361.

eigentliche Alkoholenzym, die Zymase, sehr stark. Durch gewisse Antiseptika, wie z. B. Chininchlorhydrat (0,5—1%), und auch schon durch Alkohol gelingt es, die Endotryptasewirkung herabzusetzen, ohne die Zymase zu schädigen¹⁾. So erklärt sich die Erscheinung, daß mit der Steigerung des Zusatzes dieses Antiseptikums die Gärleistung des Hefepreßsaftes erhöht wird.

Von einer „Reizwirkung“ kleiner Mengen von Giften auf die Fermentwirkungen ist nichts bekannt (s. o. S. 768).

§ 249. **Spezifische Wirkung und Bindung der Fermente. Gegenkörper und Zwischenkörper der Enzyme.** Die Enzyme wirken spezifisch, d. h. nur auf chemisch ganz bestimmt gekennzeichnete Körper in ganz bestimmter Weise. Diesen Satz haben wir allenthalben bestätigt gefunden. Die Spezifität geht soweit, daß isomere Stoffe, wie die einzelnen Poly- und Disaccharide, Hexosen und Pentosen sich demselben Enzym gegenüber ungleich verhalten, und zum großen Teil jeder sein besonderes Enzym besitzt, daß ferner ein und derselbe Stoff, wie z. B. der Traubenzucker, von einem Enzym in alkoholische, einem zweiten in milchsaure, einem dritten in buttersaure u. a. m. Gärung versetzt wird. Allerdings ist öfters die Beobachtung gemacht worden (vgl. S. 249, 399, 456), daß ein und dasselbe Enzym auch verschiedene Stoffe angreift, es handelt sich aber dann bemerkenswerterweise um solche Körper, die ähnliche Konfiguration besitzen. E. Fischer hat, um dies Verhalten zu verdeutlichen, den Vergleich gebraucht: die Enzyme verhielten sich zu den durch sie zersetzten Stoffen, wie der passende Schlüssel zum Schloß. Diese Vorstellung schließt in sich ein den Gedanken, daß der Fermentierung eine Bindung des Ferments an den zu zersetzenden Körper vorhergehe, freilich nur eine solche, die sich nach der Zersetzung wieder löse. So ist schon früher die Wirkung der anorganischen „Kontaksubstanzen“, z. B. der Schwefelsäure, bei der Ätherbildung aufgefaßt worden. Während man freilich hier eine chemisch ganz bestimmte Bindungsweise im Auge hat, ist bei den Fermenten davon nicht die Rede. Man kennt vielmehr die chemische Natur ihrer „Bindegruppen“ gar nicht. Das brauchte uns aber noch nicht davon abzuhalten, ihr Vorhandensein vorauszusetzen, namentlich wenn sich sonst Stützpunkte für diese Auffassung ergäben. Man könnte in der Tat durch diese Verbindung zwischen Enzym und zersetzbarem Stoff die oben besprochene Tatsache erklären.

1) Grigoriew, Zeitschr. physiol. Chem. 42. 323, 1904; Buchner und Antoni ebenda 44. 223, 1905.

daß bei Gegenwart des letzteren die Enzyme gegenüber schädigenden Einflüssen anders reagieren, sich widerstandsfähiger zeigen, als wenn sie isoliert ihnen ausgesetzt werden (s. S. 764). Als unmittelbaren Beweis hat man ferner den Umstand angeführt, daß in der Tat manche verdauliche Körper, wie z. B. das Fibrin, die Fähigkeit besitzen, Verdauungsfermente zu binden¹⁾. Indessen fragt es sich, ob es sich hier und in andern Fällen nicht um eine physikalisch-chemische Bindung, um einfache „Absorptionsvorgänge“ handelt, bindet doch die Seide auch Pepsin und das Fibrin auch Diastase und andere Enzyme, von denen es nicht angegriffen wird. Weiter hat man an die *Entero-kinase* erinnert, die nach *Pawlow*, *Delezenne* u. a. durch eine doppelte Bindung nach Art eines „Ambozeptors“ an das Substrat einerseits und das Trypsinferment andererseits die Fermentwirkung erst vermitteln soll, übrigens auch von *Delezenne* und *Bretton* bei Bakterien gefunden worden ist (S. 494). Da man derartige Ambozeptoren bekanntlich auch für die bakteriolytische Wirkung des Blutserums verantwortlich gemacht hat, und eine gewisse äußere Ähnlichkeit zwischen bakteriolytischen und Verdauungsvorgängen (§ 11) und überhaupt von toxischen und fermentierenden Wirkungen (S. 798 ff.), von Toxinen und andern Hilfsstoffen und Enzymen (s. o. S. 750) nicht zu verkennen ist, ist man noch einen Schritt weiter gegangen und hat auch die bindenden („haptophoren“) Gruppen der Toxine usw. mit denen der Fermente auf eine Stufe stellen wollen (*Oppenheimer*). Um so mehr ist man dazu geneigt gewesen, als sich gezeigt hat, daß die Enzyme auch eine andere Eigenschaft mit den Toxinen, Lysinen usw. gemein haben, die nach *Ehrlichs* Seitenkettentheorie (s. § 279, 327, 333 ff.) für die Existenz haptophorer Gruppen spricht, nämlich die Fähigkeit, Tiere gegen die Enzyme zu immunisieren²⁾. Spritzt man Kefir-Laktase³⁾, Urease⁴⁾, proteolytische Enzyme von Staphylokokken oder Vibrionen⁵⁾, Zymase⁶⁾ Tieren ein, so bilden sich ganz ähnlich, wie bei der Behandlung mit Immun-

1) Literatur bei *Szumowski*, Arch. de physiol. 1898. Vgl. auch Anm. 1. auf S. 755. In eigenen Versuchen haben wir eine gewisse Bindungsfähigkeit der Bakterien und ihrer Extrakte für Trypsin bestätigt gefunden (§ 10).

2) Vgl. auch im Handbuch von *Kraus* und *Levaditi* über Fermente im allgemeinen.

3) *Schütze*, Zeitschr. f. Hyg. 48, 1904.

4) *Moll*, Hofmeisters Beitr. 2, 1902; vgl. aber *Schütze*, D. med. Wochenschr. 1904, 9.

5) v. *Dungern*, Münchn. med. Woch. 1898; *Moreschi*, Giorn. Soc. ital. d'ig. 1903; *Hata*, Zentr. Bakt. Ref. 34, 1904.

6) *Jacobsohn*, Münchn. med. Woch. 1903, vgl. aber *Schütze*, D. med. Woch. 1904. 9.

toxinen (Kap. XVI) und anderen Impfstoffen (Kap. XVII) im Körper, vor allem im Blutserum der Tiere, Stoffe — Antienzyme, -fermente — die, zu den Enzymen im Reagensglas zugesetzt, deren Wirkung aufheben. Alle diese „Antikörper“ haben nach der Ehrlichschen Seitenkettentheorie das gemein, daß sie sich mit haptophoren Gruppen ihres „Impfstoffs“ oder „Antigens“ vereinigen, ebenfalls wieder, „wie der Schlüssel ins Schloß dringt“ und werden nach derselben Theorie nur von den Tieren gebildet, die schon normalerweise, wenn auch in weit geringerer Menge, immer in gewissen Zellen, oft aber auch in der Blutflüssigkeit Antikörper bzw. „Rezeptoren“, mit dem sich der Impfstoff verketteten kann, enthalten. In der Tat hat man Antienzyme auch im normalen Blutserum mehrfach gefunden (s. in den genannten Arbeiten).

So beachtenswert alle diese Beobachtungen auch sind, weil sie auf einen in dieser Beziehung ähnlichen Bau der Enzyme und übrigen Impfstoffe schließen lassen, und auch deswegen, weil sie spezifische Unterschiede zwischen scheinbar gleichartigen Enzymen erkennen lassen (v. Dungern und Moreschi¹), Morgenroth und Preti²), so wenig lassen sie eine klare Deutung zu, denn selbst wenn man die Identität der immunkörperbindenden und immunisierenden Atomgruppen zugibt, ist damit noch nicht bewiesen, daß die immunisierenden Fermente ihre Fermentwirkung durch diese selben Bindegruppen ausüben, d. h. sich mit den fermentierbaren Stoffen verketteten. Daneben bestehen noch manche Zweifel über den Mechanismus der anti fermentativen Wirkungen. Gewöhnlich sind z. B. letztere nicht entfernt so kräftig und spezifisch, wie Antitoxine. Nimmt man aber trotzdem den Beweis als geliefert an, so fragt man sich, wo denn die haptophoren Gruppen der fermentierbaren Körper, in welche die Bindegruppen oder Fermente eingreifen, und die mit den spezifischen Gruppen der Antifermente identisch sein müssen, sitzen sollten. Wir kennen doch die chemische Zusammensetzung der fermentierbaren Körper meist recht vollständig und wissen nicht, wo da für spezifische „Seitenketten“ Platz bleibt. Wir kommen also auf diesem Wege nicht zu klaren Vorstellungen und schließen daraus, daß die antigene Natur der Enzyme wirklich mit der Bindekraft für die Stoffe, die sie umwandeln, nichts zu tun haben kann. Diese Bindekraft selbst abzulehnen, sind wir freilich auch

1) a. a. O. (Antikörper für bakterielle Proteasen).

2) Bioch. Zeitschr. 4, 1907. (Antikörper für nichtbakterielles Lab und Diastase).

nicht in der Lage, wissen aber über ihre Natur ebensowenig auszusagen, als über den chemischen Bau der Fermente überhaupt und den Mechanismus, durch den sie wirken. Daß letzterer dem der Toxine ähnlich sei, dafür haben wir übrigens auch keine genügenden Anhaltspunkte (§ 256).

§ 250. **Bildung der Fermente. Zymogene.** Die Bildung der Fermente ist bis zu gewissem Grade eine veränderliche Eigenschaft der Zelle¹⁾. Nicht in jedem Augenblick werden gleiche Mengen gebildet, sondern je nach den Umständen bald mehr, bald weniger. In vielen Fällen entwickeln die Zellen die Fermente nur, wenn das Bedürfnis zu ihrer Benutzung vorhanden ist, so die Diastase, wenn stärkehaltige Nahrung, die Zymase, wenn vergärbare Zucker, Trypsin, wenn Eiweiß zur Verfügung steht. Doch haben wir im besonderen Teil schon zahlreiche Beispiele kennen gelernt, wo diese Regel nicht gilt, dieselben Enzyme vielmehr auch dann abgeschieden werden, wenn sie keinen Angriffspunkt für ihre Wirkung finden. Es besteht aber auch dann wohl eine Anpassung der Zelle an ihre Nahrung insofern, als die Menge der gebildeten Enzyme durch sie beeinflusst wird. Umgekehrt genügt übrigens manchmal selbst die Gegenwart der zersetzbaren Stoffe, z. B. des Eiweißes, nicht als Reiz für die Sekretion des Verdauungsenzyms, wenn noch andere leichter angreifbare Stoffe, z. B. Kohlenhydrate, vorhanden sind; die Zellen besitzen vielmehr in gewissem Grade die Fähigkeit des Wahlvermögens (§ 58).

Manche Erfahrungen der Tier- und Pflanzenphysiologie sprechen dafür, daß die Enzyme häufig nicht als solche in den Zellen enthalten sind, sondern gewissermaßen in einem unwirksamen (inaktiven) Zustand, als *Zymogene* oder *Profermente*. Erst auf bestimmte Reize hin, z. B. bei Berührung mit „zymoplastischen“ Substanzen, wie verdünnten Säuren, gehen sie in die Enzyme über. Vielleicht findet sich ähnliches auch bei den Mikroorganismen. Es würde das möglicherweise eine Erklärung abgeben für den mehrfach erwähnten Umstand, daß ein Enzym, wie z. B. die Invertase der Hefe- und Schimmelpilze, so lange es noch innerhalb der Zellen sitzt, hohe Temperaturen, ja die Siedehitze verträgt, wenn es aus ihnen ausgeschieden ist, aber schon niedrigen Temperaturen erliegt (§ 244).

§ 251. **Grenzen der Fermentierung. Umkehrbarkeit ihrer Wirkung. Synthetische Fermente.** Jede Fermentierung kommt früher oder später zum Stillstand. Zunächst hängt dieses, weil ja stets ein gewisser Verbrauch von Ferment stattfindet (s. o. S. 761), naturgemäß zusammen mit dem Aufhören der Fermentbildung, d. h. dem Stillstand der Zellentwicklung (§ 36 u. 37), der seinerseits auf dem

1) Über vererbliche Veränderungen bzw. Anpassungen vgl. § 353.

Mangel an Nährstoffen und dem Auftreten hemmender Einflüsse, giftiger Stoffwechselprodukte beruht. Die enzymatischen Vorgänge werden ferner auch dann ihr natürliches Ende finden, wenn alles umwandelbare Material wirklich umgewandelt ist, wenn also z. B. das sämtliche Kasein der Milch niedergeschlagen, die Gelatine des Nährbodens verflüssigt, der Zucker zu Alkohol und Kohlensäure vergoren ist. Daß wirklich oft genug damit die Grenze der Fermentwirkung gegeben ist, wird durch viele Beispiele beleuchtet. In anderen Fällen tritt der Stillstand aber schon früher ein, bevor die Zersetzung beendet ist. Ohne weiteres verständlich ist das in dem Fall, wenn die vorhandene Enzymmenge zu klein ist, erklärlich aber auch, wenn die Erzeugnisse der Zersetzung, sobald sie sich in gewisser Menge angesammelt haben, schädlich auf das Enzym selbst wirken. Dahin gehört scheinbar die Anhäufung von Alkohol, Säuren und Ammoniak bei der alkoholischen, sauren und Ammoniakgärung des Zuckers, Eiweißes, Harnstoffs usw., auch die Bildung von aromatischen Giften (Benzaldehyd, Salizylsäure, Hydrochinon) bei der hydrolytischen Spaltung der Glykoside. All das führt nachweislich zum Stillstand der Fermentierung. So lange man mit lebenden Kulturen arbeitet, läßt sich allerdings kaum sicher entscheiden, ob die Schädigung der Fermentbildung oder des Fermentes selbst daran schuld ist. Erst der Versuch mit freien Enzymen, der freilich nicht überall möglich ist, würde die richtige Antwort geben. Er hat z. B. gelehrt, daß der Stillstand der Alkoholgärung früher eintritt, wenn lebende, als wenn Zymase oder Zym in im Spiel ist. Die Benachteiligung der Enzymbildung scheint in diesem Falle also maßgebend zu sein. Andere Fälle sind noch nicht genau genug untersucht. Sind hiermit aber alle Möglichkeiten erschöpft? Keineswegs. Warum kommt, um ein gut studiertes Beispiel aus der Pflanzenphysiologie zu erwähnen, die diastatische Wirkung zum Stillstand, wenn nur etwa zwei Drittel der Stärke zu Maltose verzuckert sind, und der Rest in Dextrin verwandelt ist? Ist die Maltose, die dabei entsteht, etwa imstande, das Enzym zu zerstören? Davon kann nicht die Rede sein, denn die Verzuckerung geht weiter, wenn man neue Stärke hinzufügt oder die Maltose z. B. durch Vergärung mit Hefe entfernt, oder die Temperatur des Prozesses herabsetzt. Höchstens kann man eine gewisse Schwächung des Enzyms zugeben. Man könnte auch daran denken, daß das übrig bleibende Dextrin besonders schwer angreifbar wäre; in der Tat wird es, durch Alkohol niedergeschlagen, neu gelöst und, mit Diastase vermischt, viel schlechter verzuckert¹⁾. Ganz klar ist die Sache also hier nicht.

1) Vgl. D u c l a u x , Microbiol. 2. 452.

Durchsichtiger ist die Ursache des Stillstandes der Maltasewirkung. Hill (S. 238) stellte zunächst fest, daß die Umwandlung des Malzzuckers in Traubenzucker durch die Hefemaltase bei geringer Dichte der Zuckerlösung fast vollständig erfolgt, bei stärkerer aber unvollständig. So wurden in einer 2—4%igen Maltoselösung 98—99%, in einer 40%igen nur 84% des Malzzuckers hydrolysiert, 16% blieben als solche erhalten. Brachte man jetzt eine 40%ige Traubenzuckerlösung mit derselben Maltase zusammen, so trat darin allmählich (binnen 70 Tagen) die entgegengesetzte Wirkung ein, es bildete sich aus dem Traubenzucker bis zu 15% Maltose. Wir haben es hier also mit einem umkehrbaren, „reversiblen“ Prozeß zu tun, wie er für katalytische und andere chemische Reaktionen vielfach nachgewiesen ist¹⁾. Der Punkt, an dem die Enzymwirkung zum Stillstand kommt, entspricht dem Gleichgewicht zwischen den beiden reagierenden Stoffen (Malz- und Traubenzucker). In einer 2%igen Lösung wird das Gleichgewicht erreicht, wenn auf 99 Teile Traubenzucker 1% Malzzucker kommt, es ist daher nicht leicht, für so dünne Lösungen die Umkehrbarkeit der Reaktion nachzuweisen, während es in konzentrierten Lösungen wohl gelingt. Vielleicht haben wir in ähnlichen Verhältnissen den Grund dafür zu sehen, daß die Zahl der Fermentprozesse, die als umkehrbar erkannt sind, vorläufig noch klein ist²⁾.

Die Bedeutung der umkehrbaren Fermentwirkungen für die Erklärung der Synthesen des lebenden Protoplasmas ist klar. Es fragt sich nur, ob man alle Synthesen auf ähnlichem Wege zu erklären hat. Wir haben uns in § 66, 127, 130 usw. für diese Annahme ausgesprochen, da man auf diese Weise die sämtlichen Stoffwechselvorgänge, ob sie nun Stoffe dissimilieren oder assimilieren, auf den einheitlichen Mechanismus der Fermentwirkung zurückführen kann. Sogenannte theoretische Einwände dagegen, die auf Analogien mit katalytischen Reaktionen bzw. auf einer zu engen Definition des Fermentbegriffes beruhen, können wir nicht gelten lassen.

1) Der Umstand, daß Emmerling statt der Maltose Isomaltose (S. 239) und Fischer und Armstrong bei der Umkehrung der Laktoseinversion Isolaktose fanden (S. 241), könnte allerdings dahin gedeutet werden, daß keine eigentliche Umkehrung der Fermentwirkung eintritt, sondern ein besonderes synthetisches Ferment im Spiele sei.

2) Bekannt ist außer den im § 228b genannten Beispielen aus der Mikrobiologie die Umkehrbarkeit der Lipasereaktion z. B. im Lebersaft gegenüber Äthylbutyrat (Kastle und Löwenhart), ferner die Kondensation des Stärkekleisters durch Amylokoagulase (S. 417).

Kapitel XV.

Farbstoffe der Kleinwesen.

§ 252. **Vorkommen und Lagerung.** Die Fähigkeit zur Farbstoffbildung ist im Reiche der Mikroorganismen sehr verbreitet, nur die parasitischen Protozoen machen eine Ausnahme insofern, als sie niemals gefärbt sind. Alle reinen Farbtöne und alle Mischfarben sind vertreten¹⁾. Unter den zahlreichen roten Bazillen ist der berühmteste der *Bac. prodigiosus*, das „Wunderbakterium“ (s. u. § 255), ferner gehören hierher die Rosasarzine, das *Spirillum rubrum*, die sogenannten Purpurbakterien, die Rosahefe, rote Strahlen- und Schimmelpilze. Gelb ist ebenfalls sehr häufig, so zeichnet ein schönes Goldgelb den gemeinen Eiterstaphylokokkus, ein Zitronengelb den *Staphyl. pyogenes citreus* aus. Zahllos sind die gelbgrün, tiefgrün oder bläulich fluoreszierenden Bazillen, die auch durch die Art ihrer Begeißelung eine natürliche Gruppe (*Pseudomonas Migula* vgl. § 359) auszumachen scheinen. Ein blauer Farbstoff mischt sich dem fluoreszierenden beim *Bac. des blauen Eiters* (*Pyocyaneus*) und der blauen Milch (*Cyanogenes*) bei. Rein blau bis violett sind der *Bac. violaceus*, *janthinus*, *coeruleus*, *amethystinus*, *indigonaceus* u. a. m. Die Indigo- und Orseillegärung sind ebenfalls durch Bakterien beeinflussbar, wenn nicht hervorgerufen (§ 156). Zahlreich vertreten sind die bräunlichen, grauen und schwärzlichen Mischungen bei Bakterien, Sproß- und Fadenpilzen, die auch zum Teil wenigstens die dunkle Färbung der Humusstoffe, des faulenden Obstes, Holzes usw. bedingen (§ 153 ff.).

Geht man dem Ursprung der Färbungen in den einzelnen Fällen nach, so findet man die Farbstoffe entweder innerhalb der Zellen oder in den Membranen und Scheiden, oder außerhalb. Zu der ersten Klasse, den von Beijerinck²⁾ sogenannten „chromophoren“ Mikroorganismen, gehören vor allem die sog. Purpurbak-

1) Zusammenstellungen von Farbstoffbakterien s. z. B. bei Kruse in Flügges Mikroorg. 3. Aufl. 1. 289 und 300 ff. und im 2. Bande von Migulas System der Bakterien 1900.

2) Bot. Zeitg. 1891.

terien (§ 209), die gleichmäßig¹⁾, aber mehr oder weniger dicht, von braunem, rotem bis violetter Farbstoff durchtränkt sind, ferner die von Molisch wohl nicht mit Recht für Algen erklärten „grünen Bakterien“ Winogradskys²⁾, nämlich van Tieghems *Bacterium viride* und *Bac. virens*, Engelmanns³⁾ *Bact. chlorinum*, Ewarts⁴⁾ *Strept. varians* und grünen Spirillen, außerdem noch die grünlich schillernden Sporen des Sumpfbazillus Kleins und Migulas⁵⁾, des Kaulquappenbazillus Frenzels⁶⁾ und die rötlichen des *Bac. erythrosporus*⁷⁾, manche nicht verflüssigende Pigmentbakterien, die nach der Ansicht anderer Forscher allerdings auch den Farbstoff im wesentlichen nach außen abscheiden sollen⁸⁾. Die weiße Färbung der reinen Schwefelbakterien (*Beggiatoa* usw.) rührt von den im Zellkörper abgeschiedenen, mikroskopisch dunkel glänzend erscheinenden Schwefelteilchen her (vgl. § 208).

Viel häufiger sind intrazelluläre Farbstoffe bei den Fadenzpilzen, insbesondere in den Sporen. Zum Teil beschränkt sich freilich die Färbung hier auf die Membran oder Hülle. „Parachromophore“ Bakterien in diesem Beijerinck'schen Sinne sind z. B. *Bac. janthinus* und *violaceus*. Auch die Braunfärbung der Eisenbakterien (§ 216) beruht wesentlich auf einer Ablagerung von Eisenoxydhydrat in der Scheide, nach Molisch tritt aber brauner Farbstoff hinzu. Als echte oder „chromopare“ Pigmentbakterien bezeichnet Beijerinck die viel zahlreicheren, die den Farbstoff nach außen als „Sekret“ abscheiden. Der lebende Bakterienkörper erscheint hier anfangs farblos, aber die toten Zellen derselben oder anderer Spezies können sich mit ihm oder seinen Umwandlungsprodukten färben. So färben sich z. B. die von Beijerinck beschriebenen Leiber des *Bac. cyaneofuscus* schließlich schwarz. Sonst wird die Farbe der chromoparen Bakterien teils körnig abgesetzt, wie z. B. beim *Prodigiosus*, teils ist sie in den Nährböden gelöst, wie bei den fluoreszierenden Bazillen.

Auch bei den chromoparen Mikroorganismen wird der Farbstoff wie bei den chromophoren, wohl stets innerhalb der Zelle erzeugt,

1) Die von Bütschli (Bau der Bakterien, 1890) behauptete Beschränkung des Farbstoffs auf eine Randzone wird von Molisch (Purpurbakterien, 1907) geleugnet.

2) Beitr. z. Morph. u. Physiol. der Bakterien, Leipzig 1888.

3) Bot. Zeitg. 1882.

4) Annal. of bot. 1897.

5) System der Bakterien 1. 94, 1897.

6) Zeitschr. f. Hyg. 11.

7) Cohns Beitr. Biol. Pfl. 3. 128.

8) Vgl. Migula, a. a. O. 284.

aber nur schnell ausgeschieden. Das geschieht teilweise — z. B. beim *Pyocyaneus* (s. u.) — in der Form eines „Leukoprodukts“, das seinerseits erst durch den Sauerstoff der Luft gefärbt wird. Diese nachträgliche Färbung findet auch statt bei der Orseille- und Indigogärung und wenigstens zum Teil bei der Bildung der rotbraunen und schwarzen Stoffe, die durch Bakterienwirkung aus Tyrosin und anderen aromatischen Substanzen entstehen (s. o.). Die farbstoffliefernde Substanz selbst wird gerade in diesen Fällen entweder außerhalb der Zellen von einem durch die Mikroorganismen ausgeschiedenen Enzym (Indoxylase, Tyrosinase) oder innerhalb der Zellen durch ein Endoenzym (oder durch Protoplasmawirkung?) aus einem von dem Nährboden gelieferten Bestandteil durch einfache Spaltung oder Oxydation erzeugt.

§ 253. Chemische Zusammensetzung der Farbstoffe. Über die chemische Natur der Farbstoffe¹⁾ sind wir bisher nur unvollkommen unterrichtet. Die mineralischen Bestandteile der Schwefel- und Eisenbakterien wurden schon erwähnt. Die grüne Farbe gewisser Bakterien (s. o.) wird von ihren Entdeckern mit dem Chlorophyll identifiziert. Die Beobachtung von Tieghems, daß sie erst im Licht ergrünen, und die Engelmans und Ewarts, daß sie im Licht Sauerstoff ausscheiden, scheint allerdings dafür zu sprechen, doch fehlen noch abschließende Untersuchungen darüber und über ihre Beziehungen zu dem Bakteriochlorin Molischs (s. u.). Der rote Farbstoff der Purpurbakterien, das von Lancaster sogenannte Bakteriopurpurin, ist seitdem oft studiert worden, so von Warming, Engelmann, Winogradsky, Molisch²⁾. Die Angaben stimmen nicht in allen Einzelheiten überein. Nach Molisch ist der Farbstoff, der aus den mit Alkohol (s. u.) vorbehandelten Kulturen durch Schwefelkohlenstoff oder Chloroform erhalten wird, nicht in Wasser und Glyzerin, schwer in absolutem Alkohol, leichter in Äther, Chloroform und Schwefelkohlenstoff löslich und scheidet sich aus der alkoholischen Lösung in Kristallen aus. Durch Oxydationsmittel wird er zerstört, durch heißes Wasser, Chloroform, Salzsäure, Essigsäure, Alkalien mehr oder weniger schnell in seinem Farbton verändert, durch konzentrierte Schwefelsäure in tiefes Blau verwandelt. Nach dem spektroskopischen Verhalten des Bakteriopurpurins unterscheidet Molisch zwei Abarten des reinen Farbstoffs und erklärt die abweichenden Spektren der lebenden Kulturen durch die oben erwähnte Beimischung eines grünen schon von Bütschli gelegentlich

1) Über Farbstoffe bei Pilzen s. Zopf, Pilze, 1890, S. 143.

2) S. Lit. § 209 und namentlich Molisch, Die Purpurbakterien, Jena 1907.

gesehenen Farbstoffs. Dieser wird durch mehrmaliges einige Stunden dauerndes Ausziehen von Massenkulturen mit wenig Alkohol und Ausschütteln der alkoholischen Lösung mit Benzin, Olivenöl, Terpentinöl oder Chloroform gewonnen. Er kristallisiert nicht, sondern scheidet sich in Tropfenform aus. Vom Chlorophyll ist er durch Spektrum und Reaktion deutlich verschieden, befähigt die Purpurbakterien auch nach Molisch ebenso wenig wie das Bakteriopurpurin zur Assimilation der Kohlensäure, sondern begünstigt anscheinend nur die Ernährung mit organischen Stoffen (s. u.). Nach Bütschli wäre das Bakteriopurpurin mit dem roten Farbstoff der Flagellate *Euglena viridis* identisch.

Durch die Schwefelsäurereaktion ist das Bakteriopurpurin mit den im Pflanzen- und Tierreich weit verbreiteten, in Fetten und Fettlösungsmitteln löslichen, kristallisierbaren „Lipochromen“ oder „Karotinen“ verwandt. Zopf¹⁾ und Kohl²⁾ unterscheiden sie in die Karotinine, die Kohlenwasserstoffe und gelb sind, und die Eukarotine, die außerdem noch Sauerstoff enthalten und dunkler, bzw. rot sind. Auch in den Bakterien und Pilzen scheinen sie vorzukommen, so bei den von Zopf³⁾ beschriebenen Pigmentkokken und Bazillen, der *Sarcina aurantiaca* Schrötters⁴⁾ u. a. Analysen liegen aber nicht vor.

Die Schwefelsäurereaktion gibt eine große Reihe anderer Bakterienfarbstoffe nicht, obwohl sie sich ebenfalls in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff lösen, so z. B. der des *Bac. prodigiosus*, *ruber*, *kiliensis*, *Staphyloc. pyogenes aureus* (Schneider⁵⁾, Migula⁶⁾). Nach Griffith⁷⁾ entspräche die Zusammensetzung des Prodigiosuspigments der Formel $C_{38}H_{56}NO_5$. Kraft⁸⁾ fand zwar einen höheren Stickstoffgehalt (3,9%), betrachtet aber ebenfalls diesen Farbstoff, obwohl er ihn nicht kristallisiert erhalten konnte, als einen einheitlichen Körper. Der früher angenommene Zusammenhang des Prodigiosins mit Anilinfarbstoffen ist unbewiesen. Nur in Alkohol löslich ist das Pigment des *Bac. violaceus*. In keinem der üb-

1) Pflügers Archiv 42, 1888.

2) Untersuchungen über das Karotin, 1902.

3) Bot. Zeitg. 1889; Ber. D. bot. Ges. 1891. 22; Beitr. z. Morph. u. Physiol. nied. Organism. H. 2 und 3, 1892—1893; vgl. auch Schneider, Anm. 5.

4) Zentr. Bakt. 18, 1895.

5) Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten, in Arb. d. bakt. Inst. Karlsruhe 1. Bd. 201, 1895.

6) System der Bakterien 1. 288.

7) Compt. rend. ac. sc. 115. 321.

8) Dissertation Würzburg 1902.

lichen Mittel löslich sind nach S c h n e i d e r nur wenige Bakterienfarbstoffe, wie das des *Micr. cereus flavus* und *Bac. indigonaceus*, durch Alkalien oder Säuren lassen sie sich aber in eine freilich nur unbeständige Lösung bringen.

Im Anschluß an die w a s s e r u n l ö s l i c h e n P i g m e n t e ist noch der I n d i g o (Indigotin) zu nennen, der einzige unter Mithilfe von Bakterien oder Pilzen zu gewinnende Stoff, dessen Konstitution bekannt und dessen Synthese geglückt ist. Die Beteiligung der Mikroben an seiner Bildung beschränkt sich allerdings, wie wir schon S. 460 sahen, auf die Spaltung eines in der Nahrung dargebotenen Glykosids.

Sehr groß ist die Zahl der in W a s s e r l ö s l i c h e n und daher auch in den Nährböden diffundierenden Bakterienfarbstoffe. Am längsten und besten bekannt davon ist das von F o r d o s¹⁾ 1859 durch Ausschütteln der Kultur mit Chloroform und Verdunsten der blauen Lösung in Nadeln und Rhomben erhaltene P y o z y a n i n. Nach G e s s a r d²⁾ und L e d d e r h o s e³⁾ ist es eine durch Alkaloidreagentien fällbare Base, deren Verbindungen mit Säuren gelbrot gefärbt und viel beständiger sind, aber nicht kristallisieren und nur in Wasser und Alkohol, nicht in Chloroform löslich sind. Nach der Analyse des pikrinsauren Salzes gab L e d d e r h o s e ihm die empirische Formel $C_{14}H_{14}N_2O$.

Bei manchen Rassen des *Pyocyaneus* fehlt dieser Farbstoff, meist ist er mit einem fluoreszierenden (s. u.) verbunden (Kunz und auch Thumm). In den Kulturen selbst scheint er als Leukoprodukt vorhanden zu sein, denn durch Schütteln läßt sich die Farbe hervorrufen oder verstärken⁴⁾ und durch Sauerstoffabschluß in einer lebenden oder Sauerstoffentziehung in einer toten Kultur zum Verschwinden bringen. In alten Kulturen und durch Berührung des Farbstoffs mit der Luft bildet sich aus dem Pyozyaninein gelblich roter Körper, die ebenfalls in Chloroform und Wasser lösliche P y o x a n t h o s e, (G e s s a r d, B o l a n d⁵⁾ u. a.). Daneben können aber vom *Bac. pyocyaneus* noch andere blaue (B a b e s⁶⁾) und — von einer „melanogenen“ Rasse — braune bis schwarze Pigmente (C a s s i n, G e s s a r d⁷⁾) gebildet werden. Das letztere ist wohl identisch mit dem durch Tyrosinase aus dem Tyrosin

1) Compt. rend. 51. 215 und 56. 1128.

2) Thèse de Paris, 1882 Nr. 248; Annal. Pasteur 1890—92.

3) Deutsche Zeitschr. f. Chir. 28, 1888.

4) Vgl. C h r i s t o m a n o s, Zeitschr. f. Hyg. 36 mit Lit.

5) Zentr. Bakt. 25.

6) Soc. biol. 1889.

7) Annal. Pasteur 1901 und 1902.

entwickelten Farbstoff, dessen chemische Natur übrigens noch nicht genau festgestellt ist (S. 469). Wahrscheinlich ist der braune bis braunschwarze Farbstoff, den die Kulturen der *Streptothrix chromogenes* (s. o.), der *Bacillus pneumoniae Friedländers*, der Dysenteriebazillus *Kruses u. a.* in älteren peptonhaltigen Nährböden zeigen, diesem „Melanin“ gleich.

Auch der Bazillus der blauen Milch entwickelt wie der *Pyocyanus* neben einem fluoreszierenden (s. u.) einen andern Farbstoff¹⁾, der aber wegen seiner Vergänglichkeit noch nicht isoliert werden können. Bei deutlich saurer Reaktion, z. B. in Milch selbst, ist er himmelblau, durch allmähliche Alkalisierung wird er erst blauschwarz, dann schwarz und schließlich braunschwarz. Auch Rosafärbungen (durch Ammoniakwirkung?) werden in jüngeren Kulturen beobachtet.

Andere weniger gut bekannte wasserlösliche Farbstoffe einzelner Bakterien übergehen wir hier und besprechen nur noch die in zahlreichen Formen²⁾ verbreiteten fluoreszierenden Bakterien. Sie sollen nach *Thumm*³⁾ ihre Farbe einem einzigen nur in Wasser und verdünntem Alkohol löslichen⁴⁾ nicht kristallisierbaren Stoffe verdanken, der in konzentrierter Lösung dunkelorange bis rotbraun ist und im auffallenden Lichte eine rein blaue Fluoreszenz zeigt. Bei Verdünnung wird die Farbe gelb und verschwindet zuletzt, während die blaue Fluoreszenz noch deutlich bleibt. Durch Alkalien einschließlich Ammoniak und alkalische Erden geht die blaue in grüne Fluoreszenz über. Verdünnte Säuren machen die Fluoreszenz verschwinden, ohne die Farbe zu verändern. Die chemischen Analysen und Reaktionen stellen das Pigment in die Nähe der Eiweißkörper, doch kann von Reindarstellung keine Rede sein. Aus der Säurebildung erklärt sich der Mangel an Fluoreszenz in zuckerhaltigen Kulturen, aus der Ammoniakbildung die grüne Fluoreszenz in alten Kulturen.

Die Farbstoffe der einzelnen Mikroorganismen, abgesehen von den fluoreszierenden, zeigen auch, wenn sie in ihren Lösungsverhältnissen übereinstimmen, gegenüber den Reagentien und im Spektroskop große Verschiedenheiten, so daß *Schneider* und *Migula* diese zur Artunterscheidung benutzten. Vorsicht ist da freilich vonnöten wegen

1) *Neelsen*, *Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz.* 3, 1883; *Hüppe*, *Mitteil. Gesundheitsamt* 2, 1884; *Gessard*, *Annal. Pasteur* 91. 12 und *Thumm* s. u.

2) *Jordan*, *J. of exper. Med.* 1899. 633 zählt 52 „Arten“ auf.

3) *Arbeit. bakteriolog. Inst. Karlsruhe* 1895. 1. 291 Lit.

4) Dargestellt wird er durch Fällung der Lösungen mit starkem Alkohol, Filtrieren und Niederschlagen mit absolutem Alkohol.

der Möglichkeit, daß die Farbstoffe selbst, wie die Fähigkeit, sie zu bilden, veränderlich sind.

§ 254. **Bedingungen der Färbstoffbildung.** Daß in der Tat die Farbstoffbildung keine unveränderliche Eigenschaft ist, hat die Beschäftigung mit den Pigmentbazillen bald gelehrt. Von den verschiedenen „Rassen“ des *Pyocyaneus* sprachen wir schon eben, durch künstliche Eingriffe sind bei ihm, bei dem *Prodigosus* u. a. mehr oder weniger leicht farblose Abarten zu erzielen, und schon die Herkunft von diesem oder jenem Nährboden, das Alter der Individuen beeinflußt die Fähigkeit, Farbstoff zu bilden. Wir kommen im Kap. XVIII auf diese Verhältnisse zurück. Nicht zu verwechseln mit der ungleichen Anlage zur Farbstoffbildung, die den Bakterien selbst eigen ist, ist die Abhängigkeit der Pigmentierung von den äußeren **W a c h s t u m s - b e d i n g u n g e n**.

Am leichtesten nachweisbar ist der Einfluß des **S a u e r s t o f f s** und der **T e m p e r a t u r**. Zur Entwicklung des Pigments scheint fast regelmäßig Sauerstoffzutritt nötig zu sein. Daher sieht man in Stichkulturen in festen durchsichtigen Nährböden und sogar in Platten nur die oberflächlichen Kolonien gefärbt. Manchmal, wie beim *Pyocyaneus* (s. o.), liegt das bloß daran, daß das von den Bakterien auch ohne Sauerstoffzutritt gebildete Vorstadium der Farbe, das Leukoprodukt, erst durch den Sauerstoff der Luft zu Farbe oxydiert wird. Andere Male mag nur die kümmerliche Entwicklung der betreffenden luftliebenden Bakterien bei Sauerstoffabschluß den Pigmentmangel verursachen. Ausnahmen von der Regel bilden sämtliche Purpurbakterien, wozu nach **M o l i s c h** auch das *Spirillum rubrum* v. **E s m a r c h s** gehört, der *Bac. rubellus* **O g a t a s**, der *Diplococcus pyogenes* **P a s q u a l e s**¹⁾, und einige andere von **P a p e n h a u s e n**²⁾ studierte Bakterien. Hier fehlt sogar gewöhnlich der Farbstoff an der Oberfläche, während er in der Tiefe entwickelt ist. Zum Teil erklärt sich das möglicherweise daraus, daß der **L u f t s a u e r s t o f f** hier die **F a r b e** z e r s t ö r t. Nach **P a p e n h a u s e n**²⁾ spielt vielleicht auch der **D r u c k** als **R e i z** für die **F a r b s t o f f b i l d u n g** eine Rolle (§ 44). Bei den meisten Purpurbakterien ist ihre anaërobe oder mikroaërophile Natur (S. 100) maßgebend. Nur beim *Spirillum rubrum* zeigt sich die Erscheinung, daß die Farbstoffbildung, aber nicht das Wachstum auf eine bestimmte (die günstigste?) Sauerstoffspannung eingestellt ist.

Daß die **T e m p e r a t u r** einen bedeutenden Einfluß auf die Farbstoffbildung besitzt, kann man vielfach beobachten. So wächst

1) Zieglers Beitr. 12.

2) Arbeit. bakt. Inst. Karlsruhe 3. 76, 1903.

der *Prodigiosus* bei Bruttemperatur farblos. Auch hier ist die höhere Temperatur an sich ungünstig für das Wachstum, durch allmähliche Gewöhnung an sie lassen sich die *Prodigiosusbakterien* daher auch bei 37° gefärbt erhalten (*Dieudonné* § 354). Umgekehrt bilden diejenigen Farbstoffbakterien, die bei höherer Temperatur besser wachsen dort auch reichlicheres Pigment.

Licht scheint nur für die Entwicklung des Pigments der „grünen“ und Purpurbakterien nötig oder wenigstens nützlich zu sein (s. o. S. 780), ebenso für das des *Micr. ochroleucus* (*Prove*¹⁾). Sonst färben sich die Bakterienkulturen gerade im Dunkeln am schönsten, wie sie sich ja auch hier am besten entwickeln. Starke Beleuchtung schädigt die Farbstoffbildung wie die Keime (§ 45), aber auch die Farbe selbst. So wird nach *Pansini*²⁾ fertig entwickelte *Prodigiosuskultur* auf Agar durch die Sonne entfärbt, und Kartoffelkulturen nehmen einen schwärzlichen Ton an. In trockenem Zustand ist dagegen das *Prodigiosin* recht haltbar (*Kraft*). Ungünstig auf die Färbung wirken auch alle übrigen wachstumsschädigenden Einflüsse, z. B. Antiseptika (Kap. XVIII).

Die Bedeutung der Ernährungsweise für die Farbstoffbildung folgt schon aus der ungleichen Färbung der Kulturen auf verschiedenen Nährböden. Was zunächst die Reaktion anlangt, so hat sie, wie das Beispiel des *Bac. cyanogenes* und der fluoreszierenden Bakterien (S. 783) zeigt, großen Einfluß auf den Ton der Farbe. Ein gewisser leichter Säuregrad scheint im allgemeinen günstiger auf die Farbstoffbildung zu wirken, als deutlich alkalische Reaktion (vgl. *Papenhausen*, s. o., *Kuntze*, s. u.). Vielfach hat man versucht, die Nährstoffe, die zur Erzeugung der Farbe nötig sind, durch Züchtung in künstlich zusammengesetzten Lösungen festzustellen. *Gessard* (S. 782) kam dabei zu dem Schluß, daß seine „melanogene“ Varietät des *Pyocyaneus* das Pyozyanin schon bildet bei Gegenwart von bernsteinsaurem Ammoniak als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle, Magnesiumsulfat und Kalziumchlorid als Salzen; den fluoreszierenden Farbstoff aber erst entwickelt bei Zufügung von Natrium- und Kaliumphosphat und das Melanogen nach Tyrosinbeigabe. Es fragt sich, ob diese Regel ganz allgemein gilt. Wenn es der Fall wäre, sollte man denken, daß in der doch schon verwickelt genug zusammengesetzten Fleischbouillon (ohne Pepton) wenigstens die beiden ersteren Stoffe von Rassen, die überhaupt dazu imstande sind, gebildet würden; das ist aber nach *Gessard* selbst nicht so; es gibt zwar Rassen, die darin beide Farbstoffe bilden, aber auch andere, die in Bouillon bloß

1) *Cohns Beitr. Biol. Pfl.* 4. 409, 1887.

2) *Società di Naturalisti in Napoli* 1890.

Pyozyanin oder bloß Fluoreszin oder keins von beiden bilden, die aber bei Zusatz von Pepton zur Bouillon sämtlich Pyozyanin und (die melanogenen) auch Melanogen entwickeln. Man sieht daraus, wieviel auch hier auf die Anlage der Keime ankommt.

Im übrigen haben auch andere Forscher die Wichtigkeit der Salze für die Farbstoffbildung bestätigt, so Thumm und Kuntze¹⁾ die der Phosphate für die fluoreszierenden Bakterien bzw. für den Prodigiosus. Von den übrigen Mineralstoffen kann Chlorkalzium anscheinend weggelassen werden, sobald Magnesiumsulfat vorhanden ist, nicht aber umgekehrt. Vielmehr ist Magnesiumsulfat nach Thumm, Nösscke²⁾, Kuntze und Samkow³⁾ für die Farbstoffbildung bei diesen Bakterien unersetzlich und zwar, wie Nösscke zuerst nachwies, durch seine beiden Bestandteile, das Metall und die Schwefelsäure, die denn auch mit demselben Erfolg in anderer Form dargeboten werden können. Nach Samkow geht die Magnesia nicht in das Prodigiosuspigment selbst über, sie ermöglicht also auf andere Weise seine Bildung. Auch hier liegt wieder die Deutung nahe, daß die genannten Salze deshalb die Pigmentierung begünstigen, weil sie das Wachstum begünstigen, das Ausbleiben der Pigmentierung also für eine Hemmungserscheinung zu halten. Bis zu einem gewissen Grade ist das auch der Fall, insofern z. B. Spuren von Magnesia und Phosphaten für die Entwicklung überhaupt nötig sind (§ 30). Indessen glaubt Kuntze⁴⁾ diesen und andere Einwände gegen die besondere Bedeutung des Magnesiumsulfats für die Farbstoffbildung durch neue Versuche zurückweisen zu können. Auch die Beschaffenheit der Kohlenstoff- und Stickstoffquelle ist auf die Farbstoffentwicklung von Einfluß. Nach Thumm unterscheiden sich z. B. die einzelnen fluoreszierenden Bazillen durch die Vorliebe für diesen oder jenen Nährstoff. Nach Gessard bildet der Pyocyaneus sein fluoreszierendes Pigment auf Eiweiß am schönsten. Notwendig für die Farbstoffbildung der Bakterien ist die eiweißartige Nahrung im allgemeinen aber nicht. Eine Ausnahme machen die melanogenen Bakterien, insofern sie entweder Tyrosin oder Protein, aus denen sie dieses abspalten können, verlangen. Kohlenhydrate, insbesondere Stärke (Reis, Kartoffeln) begünstigen meistens die Pigmentbildung (Papenhause u. a.). Glycerin im Nährboden schwächt nach unserer Erfahrung die Bildung des Prodigiosins.

1) Zeitschr. f. Hyg. 34, 1900.

2) Beitr. z. klin. Chir. 18, 1897. und Arch. f. Chir. 61.

3) Zentr. Bakt. 2. Abt. 11.

4) Ebenda 1. Abt. 44. 299, 1907.

Die Art und Weise, wie die Bildung der Pigmente oder ihrer Leukoprodukte vor sich geht, ist im allgemeinen noch völlig dunkel. Es wäre aber möglich, daß dabei regelmäßig fermentative Vorgänge eine Rolle spielten. Nachweislich sind ja Enzyme beteiligt bei der Indikanspaltung durch die indigoliefernden Mikroorganismen (S. 460) und bei der Oxydation des Tyrosins durch die melanogenen Arten (S. 268). Eine eigentümliche Kontaktwirkung der Pyocyaneusbazillen auf ein von ihnen geliefertes Pigment (Pyoxanthose?) beschreibt de Seixas Palma¹⁾. Die gelbe Farbe wurde in eine grüne verwandelt.

§ 255. Bedeutung der Farbstoffe. Nach Beijerinck besäße der Farbstoff nur für die Ernährung der chromophoren Mikroorganismen eine Bedeutung, während er bei den chromoparen und parachromophoren eine nutzlose Absonderung wäre. Es fragt sich aber, ob wir das heute schon sagen dürfen. Nachgewiesen oder wenigstens wahrscheinlich ist bisher die Bedeutung der Färbung nur für die grünen und Purpurbakterien. Sie ersetzt mehr oder weniger die Leistung des Chlorophylls bei der Assimilation. Nur bei ersteren geschieht das freilich in dem Sinne, daß der Farbstoff die Assimilation des Kohlenstoffs aus der Kohlensäure unter gleichzeitiger Abspaltung von Sauerstoff ermöglicht (s. o. S. 780). Engelmann glaubte zwar einen ähnlichen Vorgang auch bei den Purpurbakterien beobachtet zu haben. Molisch leugnet aber entschieden jede Sauerstoffentbindung bei diesen und hat auch die Assimilation der Kohlensäure, die ja auch auf anderen Wegen stattfinden könnte, dadurch unwahrscheinlich gemacht, daß er nachwies, wie groß das Bedürfnis vieler Purpurbakterien nach einer reichlichen organischen Nahrung ist. Gedeihen sie doch am besten in Pepton-Zuckerlösungen und überhaupt nicht in einer rein mineralischen oder an organischen Stoffen armen Lösung²⁾. Trotzdem stehen aber Wachstum, Farbstoffbildung sowie die Bewegungen (§ 46) der Purpurbakterien in deutlicher Abhängigkeit vom Licht³⁾. Molisch glaubt daher, daß das Licht und die Farbstoffe bei der Assimilation organischer Stoffe durch die Purpur-

1) Zentr. Bakt. 43. 417.

2) Das widerspricht allerdings Winogradskys Angabe, ebenso die von Nason und Molisch festgestellte Unabhängigkeit vieler Purpurbakterien vom Schwefelwasserstoff (vgl. § 209). Ob Artunterschiede dafür entscheidend sind?

3) Ausnahmen kommen allerdings vor, indem manche Purpurbakterien auch im Dunkeln lebhaft schwärmen (Winogradsky) und in Reinkulturen auf festen Nährböden schönen Farbstoff bilden und reichlich wachsen (Molisch). Damit wäre der Übergang zu anderen Pigmentbakterien gegeben.

bakterien eine ähnliche Rolle spielen, wie Licht und Chlorophyll bei der Assimilation der Kohlensäure durch grüne Pflanzen, und daß außerdem die Purpurbakterien im Lichte aus der organischen Nahrung „einen Stoff bilden, der ihnen die Bewegung gestattet, und dessen Vorrat ihnen noch in der Dunkelheit einige Zeit die Bewegung ermöglicht.“ Bei allen anderen Bakterien ist die Funktion der Farbe zweifelhaft. Immerhin wissen wir, daß manche Farbstoffe (Lipochrome) im Dunkeln oder im Licht die Eigenschaft besitzen, den Sauerstoff aufzuspeichern (Pfeffer und Ewart S. 104) und dadurch den Bakterien eine Zeitlang vielleicht Leben ohne Sauerstoffzutritt ermöglichen oder ihnen in anderer Weise nützlich sind. Daß die fluoreszierenden Farbstoffe (allerdings nicht bakteriellen Ursprungs) unter der Einwirkung des Lichtes und Sauerstoffs lebende Zellen, Enzyme und Gifte beeinflussen, wissen wir durch Raab, Tappeiner u. a. (S. 154). Wenn auch bisher nur schädliche Wirkungen bekannt sind, wäre es doch denkbar, daß in schwächerer Konzentration auch nützliche hervortreten könnten, oder daß die schädlichen Wirkungen nur gegenüber anderen Kleinwesen, die mit den fluoreszierenden Bakterien zusammen leben, sich bemerkbar machten und dadurch den letzteren den Wettbewerb mit jenen erleichterten. Vor allen Dingen bleibt dann aber noch die Möglichkeit, daß die Farbstoffe den Kleinwesen in ähnlicher Weise biologisch („ökologisch“) von Nutzen sind, wie den Pflanzen und Tieren. Man könnte sie z. B. als Lockmittel für Insekten, die ihre Verbreitung bewirken sollen, betrachten. Damit stimmt die Tatsache zusammen, daß gerade in der Luft gefärbte Keime außerordentlich verbreitet sind. Wenn man diesen Gesichtspunkt auf die Spitze treiben wollte, könnte man sogar sagen, daß die Fähigkeit, Farben zu erzeugen, auch zur Verbreitung der betreffenden Keime durch den Menschen Veranlassung gäbe: haben sie doch nicht nur die Bakteriologen von jeher besonders angezogen, sondern schon lange die Aufmerksamkeit der Menschen erweckt. Man soll nicht einwenden, daß abnorme Färbungen auf Nahrungsmitteln und dergleichen zur Vernichtung der sie hervorruhenden Keime Anlaß geben, denn diese Gefahr liegt wohl nur von seiten des hygienisch geschulten Kulturmenschen vor, beim Naturmenschen und beim Tiere werden dergleichen Färbungen wohl eher abschreckend wirken, also zur Erhaltung der Keime beitragen.

Das leitet uns über zu einer Würdigung der farbstoffbildenden Kleinwesen in ihrer Bedeutung für die Außenwelt und den Menschen. Nützlich wird die *Streptothrix chromogenes* nach Beijerinck durch den wesentlichen Anteil, den sie an der Humusbildung nimmt (S. 381). Für den Menschen

und die höheren Tiere spielen die abnormen Färbungen eine ähnliche Rolle wie die schlechten Gerüche der Fäulniserreger, sie machen auf die Verderbnis von Nahrungsmitteln aufmerksam.

Hin und wieder hat man wohl daran gedacht, die Farbstoffbildung technisch zu verwerten. Aber die verhältnismäßig geringe Färbekraft, die meist geringe Haltbarkeit und die Kostspieligkeit der Bakteriennährböden machen das im allgemeinen unmöglich. Die Mithilfe von Bakterien bei der Indigo-, Orseille- und Lakmusgewinnung, die man eine Zeitlang angenommen hatte, ist neuerdings sehr zweifelhaft geworden (§ 156). Im übrigen hat bekanntlich der künstlich dargestellte Indigo schon den natürlichen fast völlig verdrängt.

Die schädlichen Wirkungen der Farbstoffbildungen überwiegen bei weitem. Wir erinnern zunächst daran, daß unter ihnen eine ganze Reihe Erreger von Krankheiten bei Menschen und Tieren sind, so meistens die Eiterstaphylokokken, säurefesten Bakterien, Strahlenpilze, der *Bac. pyocyaneus*, viel seltener pigmentbildende Streptokokken u. a. m. Auf lebenden Pflanzen schmarotzen namentlich gefärbte Pilze (Zopf S. 780). Weit größer ist die Schar der gefärbten Saprophyten, die Nahrungsmittel, Holz¹⁾ usw. verderben. Man darf aber wohl sagen, daß die Farbstoffbildung als solche weder zur Krankheitserregung²⁾ noch zur Zersetzung wesentlich beiträgt, daß sogar durchschnittlich die gefärbten Mikroorganismen in beiden Beziehungen weniger leistungsfähig sind als die ungefärbten. Eine Ausnahmestellung gebührt eigentlich nur drei Mikroorganismen: dem *Bazillus des blauen Eiters*, weil er meist zwar nur unbedeutende Krankheitserscheinungen, aber doch recht unangenehme Störungen im chirurgischen Betriebe³⁾ verursacht; dem blutroten „Wunderbakterium“ (*Bac. prodigiosus*), weil er früher als Ansiedler auf geweihtem und ungeweihtem Brot und anderen Speisen zu unheilvollen Verwechslungen Anlaß gegeben hat⁴⁾, ihm und namentlich dem *Bazillus der blauen Milch*, weil sie beide durch Veränderung der Milch förmliche Stallepidemien⁵⁾ hervorrufen.

1) Färbungen durch holzzerstörende Pilze s. bei T u b e u f in L a f a r s Handb. 3. 299 ff.

2) Das Pyozyanin ist z. B. ungiftig.

3) Über blau, rot und rosa gefärbten Schweiß s. Infektionslehre.

4) Geschichtliche Angaben bei S c h e u e r l e n , Arch. f. Hyg. 26.

5) N e e l s e n , Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz. 3, 1880; H ü p p e , Mitteil. d. Gesundheitsamts 2, 1884; gelegentliche Beobachtungen über andere blaue, rote und gelbe Verfärbungen der Milch s. bei W e i g m a n n in L a f a r s Handb. 2. 206; Färbungen des Käses ebenda 230, des Brotes 259.

Kapitel XVI.

Gifte der Kleinwesen.

§ 256. **Einleitung. Beschaffenheit und Wirkungsweise.** Als Gifte (Toxine) bezeichnen wir im weitesten Sinne des Wortes solche Erzeugnisse der Kleinwesen, die lebende Zellen anderer oder auch derselben Art zu schädigen geeignet sind. Betrifft die Schädigung die Zellen derselben Art, so spricht man auch von Selbstvergiftung (Autointoxikation) und Selbstgiften („Autotoxinen“, § 47). Infektionsgifte sind (im strengen Sinne) nur die von echten Infektionserregern im Körper ihrer Wirte gebildeten Gifte, im weiteren versteht man darunter allerdings auch solche, die nur in der Außenwelt gebildet werden, aber den Infektionsgiften durch ihre übrigen Eigenschaften nahestehen (z. B. das Wurstgift).

Gifte sind sehr verschiedene Stoffe. In erster Linie kommen diejenigen, deren chemische Natur genau bekannt ist, wie die Säuren und Alkohole, das Ammoniak und die organischen Basen, die aromatischen Produkte, der Schwefelwasserstoff, die Kohlensäure, salpetrige Säure u. a. m. Sie sind am besten als Stoffwechselgifte (§ 258—260) zu bezeichnen, weil sie bei den gewöhnlichen Stoffwechselvorgängen (namentlich Gärungen), die wir in den vorhergehenden Kapiteln beschrieben haben, als Haupt- oder Nebenerzeugnisse entstehen. Wenn auch ihre Bedeutung von vornherein nicht unterschätzt werden darf, so hat doch der Erfolg gelehrt, daß sie in größerem Umfange nur von den freilebenden Mikroben gebildet und von diesen im Kampfe ums Dasein mit anderen Kleinwesen ausgenützt werden (§ 48). Allenfalls kommen sie dann noch bei den Pflanzenparasiten als eigentliche Infektionsgifte in Betracht. Einige von ihnen, z. B. der Alkohol, werden — allerdings nur in größeren Mengen einverleibt — Tieren und Menschen gefährlich. Verhältnismäßig harmlos sind dagegen meist die organischen Basen oder Ptomaine, die man früher als wesentliche Ursache der infektiösen Vergiftungen im Verdacht hatte (§ 259).

Viel wichtiger ist in dieser Beziehung eine zweite Klasse von Giften, die wir deshalb als **eigentliche oder Eigengifte** (spezifische Gifte) bezeichnen wollen. Ihre chemische Beschaffenheit ist bisher so gut wie gar nicht bekannt, wahrscheinlich besitzen sie aber einen **verwickelten Bau** und sind dadurch wie in anderen Eigenschaften den Enzymen ähnlich. Eine Zeitlang hat man an ihre eiweißartige Natur geglaubt und sie als „Toxalbumine“, „Bakterienproteine“ usw. bezeichnet, doch haben spätere Erfahrungen diese Ansicht erheblich erschüttert (§ 273, 280). Als eine wesentliche Eigenschaft dieser Gifte betrachtet man gewöhnlich ihre **Empfindlichkeit** gegen chemische und physikalische Einflüsse, insbesondere Erhitzung, die sogenannte „**Labilität**“ ihrer Moleküle; für viele Fälle trifft das auch zu, doch gibt es genug Eigengifte der Bakterien, die sich dieser Regel nicht fügen, ebenso wie es z. B. kochfeste Pflanzen-, Tiergifte und sogar Enzyme gibt (§ 274). Umgekehrt kennen wir übrigens auch **Stoffwechselgifte**, die sehr empfindlich und deshalb schwierig darzustellen sind, z. B. das Sepsin (§ 259). Je nachdem die Gifte von den Mikroorganismen nach außen abgesondert oder in ihren Zellkörpern abgelagert und durch deren Zerstörung frei werden, kann man sie als **Sekretgifte** (Ektotoxine) oder **Leibesgifte** (Endotoxine) unterscheiden. Zu den ersten rechnet man z. B. die Gifte der Diphtherie, des Tetanus und Botulismus, die man leicht durch Filtration der betreffenden Bakterienkulturen gewinnt, zu den letzteren die der Tuberkel- und Cholerabazillen, die man nur mit mehr oder weniger Mühe aus den Bakterienleibern ausziehen kann. In den genannten, wie in manchen anderen Fällen hat diese Trennung einen Wert, weil sie uns lehrt, die Gifte zu gewinnen. Doch werden wir sehen, daß sie sich nicht scharf durchführen läßt (§ 272). Im Grunde haben wir es hier, wie bei den Enzymen (§ 240), nur mit der Tatsache zu tun, daß sich die wirksamen Stoffe mehr oder weniger leicht von den Zellen, die sie erzeugen, trennen, bzw. trennen lassen. Wie es für den Stoffwechsel der Mikroorganismen verhältnismäßig geringe Bedeutung hat, ob der Rohr- oder Malzzucker der Nahrung außerhalb oder innerhalb ihrer Leiber invertiert wird, so ist es für die Giftwirkung nicht von wesentlichem Belang, ob die Gifte gewissermaßen freiwillig oder unfreiwillig abgegeben werden, die Hauptsache bleibt, daß das überhaupt geschieht, und dafür sorgen die Parasiten bzw. die Mikroorganismen schon selbst. Sehen wir doch z. B., daß die Vergiftung durch die Cholerabazillen im Tier unter ganz ähnlichen Erscheinungen auftritt, ob sie von lebenden oder toten Bazillen ausgeht. Hier möchten wir nur noch, um Mißverständnisse zu verhüten, hervorheben, daß die Ausdrücke Sekret-

oder Leibesgifte keinesfalls so aufgefaßt werden dürfen, daß die einen als Produkte des abbauenden Stoffwechsels — wie unsere Stoffwechselgifte (s. o.) —, die anderen als Bestandteile des Protoplasmas, also synthetisch entstanden zu denken wären. Im Gegenteil können wir sie sämtlich vielleicht als Protoplasmabestandteile (Seitenketten) betrachten. Über die Entstehung der Eigengifte wissen wir übrigens ebenso wenig als über die der Enzyme (§ 68). Wir wissen nur, daß sie wie diese in sehr verschiedener Menge, unter Umständen auch gar nicht erzeugt werden, daß Ernährung und andere Einflüsse der Umgebung auf ihre Bildung einwirken (§ 271).

Von einem Teil der Eigengifte der Mikroorganismen ist es bekannt, daß sie imstande sind, Tiere bei richtiger Behandlung allmählich gegen eine nochmalige Einwirkung derselben Gifte zu schützen, zu immunisieren. Diese Giftimmunität kann so hoch steigen, daß selbst die größten Gaben der Gifte unschädlich ertragen werden. Gewöhnlich, wenn auch nicht regelmäßig, gelingt es dabei, nachzuweisen, daß im Blut bzw. Blutserum der immunisierten Tiere spezifische Gegengifte („Antitoxine“) vorhanden sind, d. h. Stoffe, durch welche die Gifte, und zwar nur diejenigen, mit denen immunisiert worden ist, unschädlich gemacht werden. Diese „Neutralisierung“ erfolgt proportional der Menge der Gifte und Gegengifte, so daß es nahe liegt, sie durch eine chemische Bindung zu erklären. Man ist wohl zu weit gegangen, wenn man die Immunität ausschließlich auf die Gegenwart von Antitoxinen im Blut zurückführt (vgl. Immunitätslehre), daß sie aber für die Giftfestigkeit große Bedeutung haben, folgt schon daraus, daß man durch Übertragung antitoxischen Serums auf neue Tiere diesen sofort Immunität gegen das betreffende Gift — und zwar nur gegen dieses — verleihen kann. Unter solchen Umständen erscheint es berechtigt, von immunisierenden, die Bildung von Antitoxinen anregenden Eigengiften, Immuntoxinen oder Impfgiften¹⁾ zu sprechen. Gerade die kräftigsten Bakteriengifte, wie die des Tetanus, der Diphtherie, des Botulismus, Rauschbrands und der Dysenterie gehören zu ihnen. Bei anderen Giften hat man Gegengifte nicht nachweisen können, obwohl man von ihnen weiß, daß auch an sie sich die Tiere so „gewöhnen“ können, daß sie unbeschadet größere Mengen vertragen können. Von den Eigengiften haben das Tuberkulin

1) Oppenheimer u. a. wollen den Ausdruck „Toxine“ ausschließlich für die Immuntoxine vorbehalten. Bei dem wechselnden Sprachgebrauch dieses Wortes, das schließlich doch nichts weiter bedeutet als Gifte, empfiehlt sich das aber nicht. Falsch ist jedenfalls die Identifizierung dieser „Toxine“ mit den Ektotoxinen oder Sekretgiften (§ 275).

und viele andere Leibesgifte, von den Stoffwechselgiften der Alkohol, das Neurin u. a. die genannte Eigenschaft. Der Begriff der Giftgewöhnung ist lange nicht so geklärt, wie derjenige der Giftimmunität. Eine scharfe Scheidung zwischen beiden, wie sie vielfach beliebt wird, ist schon deswegen nicht möglich, weil, wie oben bemerkt, bei manchen Tieren, die mit Immungift behandelt oder giftfest sind, die Antitoxine im Blute zeitweise oder überhaupt fehlen bzw. nicht in der dem Grade der Immunität entsprechenden Menge vorhanden sind. Man könnte geneigt sein, eine dritte Gruppe von Giften aufzustellen, die sich dadurch auszeichnen, daß sie weder Immunität noch Gewöhnung bedingen, sondern umgekehrt ihre Wirkung mit jeder neuen Gabe steigern. Gewisse langsam wirkende Leibesgifte sind hierher zu rechnen. Jedoch hat man die Beobachtung gemacht, daß auch andere, ja vielleicht alle zu den ersten beiden Gruppen gehörenden Gifte, wie Diphtherie-, Choleragift, Tuberkulin unter Umständen „Überempfindlichkeit“ hervorrufen und in überempfindlich gewordenen Tieren durch Gaben Schaden stiften können, die bei neuen Tieren ganz unschädlich sind. Die Krankheitszeichen pflegen dabei allerdings ganz bestimmter Art zu sein, so daß man von einem Symptomenbild der Überempfindlichkeit oder „Anaphylaxie“ spricht. Auch die Überempfindlichkeit ist gewöhnlich durch das Blutserum der betreffenden Tiere auf andere übertragbar und spezifisch, d. h. gilt nur gegenüber Stoffen derselben Herkunft, also ist wohl die Bildung von spezifischen „Anaphylaxinen“ im Blute anzunehmen. Das Studium dieser eigentümlichen Erscheinung weist noch manche Lücken auf, aber es macht vorläufig den Eindruck, als ob sie bedingt wäre durch andere in den Giftlösungen vorhandene Stoffe, als die eigentlichen Gifte selbst. Wissen wir doch, daß auch so harmlose Substanzen, wie Blutserum, Milch, Eiweiß usw. durch eine zweite Einspritzung im Tier Zeichen der Überempfindlichkeit, ja den Tod bewirken können. Und finden wir doch gelegentlich, daß selbst eine kräftige Antitoxinbildung in überempfindlichen Tieren nicht ausbleiben braucht, Anaphylaxine und Antitoxine also nebeneinander gebildet werden können¹⁾.

So außerordentlich, wie es zunächst scheint, ist dieses Vorkommen nicht, wir müssen uns vielmehr von vorn herein daran gewöhnen, in unseren Giftpräparaten Stoffmischungen der verwickeltsten Art zu sehen. Ist es doch ganz gewöhnlich, daß man durch Behandlung von Tieren mit ihnen, z. B. auch mit Dysenteriegiftlösungen, im Blutserum außer Antitoxinen und Anaphylaxinen auch spezifische Bak-

1) Vgl. über Anaphylaxie und das anaphylaktische Gift § 344.

teriolysine und Tropine, Agglutinine, Präzipitine und „Reagine“ zu sehen bekommt. Und nicht genug damit, es ist sogar durch neuere Forschungen wahrscheinlich geworden, daß mehrere verschiedene Antitoxine — gegen das „Kaninchen-“ und „Meerschweinchengift“ des Ruhrbazillus § 289 — im Serum von ruhrimmunisierten Tieren vorhanden sind.

Diese „immunisierenden“ Vorgänge im Tierkörper werden wir in der Fortsetzung dieses Werkes, der „Immunitätslehre“, gründlicher zu behandeln haben, hier interessieren sie uns nur insofern, als sie ein Licht werfen auf die chemische Natur der Giftstoffe oder wenigstens der Immungifte. Offenbar gehören diese eben durch ihre Fähigkeit, die Bildung von Gegenkörpern („Antikörpern“) im lebenden Tier zu erzeugen, in eine Klasse mit den anderen „Impfstoffen“, „Gegenstoffen“ oder „Antigenen“ (Lysino-, Tropino-, Agglutino-, Präzipitino-, Reagino-Anaphylaxogenen s. u. § 333—344) des Bakterienleibes und anderer Zellbestandteile oder Interzellularflüssigkeiten oder Sekrete von Pflanzen und Tieren. Die Enzyme sind ja, wie wir schon sahen, größtenteils auch hierher zu rechnen (§ 249). P. Ehrlich verdanken wir eine anschauliche Vorstellung über die Bildungsweise der Gegenkörper, die sogenannte Seitenkettentheorie. Sie beruht auf der Annahme, daß die Antigene in ihrem Molekül stets eine (oder mehrere) bindende Atomgruppen („haptophore“ Gruppen oder „Seitenketten“) enthalten, mittelst deren sie sich an entsprechend gebaute Seitenketten („Rezeptoren“) der tierischen Zellen anlegen und diese gewissermaßen dadurch ausschalten, wodurch dann die Zellen zu überreichlicher Neubildung von Rezeptoren und zu ihrer Abstoßung ins Blut angeregt werden. Diese „freien Rezeptoren“ wären nichts weiter als eben die gesuchten „Antikörper“. Über die Berechtigung dieser Seitenkettentheorie und die damit zusammenhängenden Anschauungen werden wir uns später auszusprechen haben (§ 279, 327 ff.). In der Hauptsache stimmen wir mit Ehrlich überein, nämlich darin, daß die Bindung der Immuntoxine wie die der Antigene überhaupt, als eine chemische, durch eine besondere „haptophore“ Gruppe der Moleküle bewirkte Bindung anzusehen sei, halten es auch nach den ausführlichen Arbeiten Ehrlichs u. a. über den Bau des Diphtheriegifts und der übrigen Impfgifte (§ 262 ff. u. § 275) für wahrscheinlich, daß die eigentliche Giftwirkung der Toxine einer anderen „toxophoren“ Gruppe zu verdanken ist. Dadurch, daß diese in ihrer Leistungsfähigkeit geschwächt wird, entstehen schwach oder gar nicht giftige, aber doch noch mit dem Immunserum reagierende Stoffe, Ehrlichs Toxoiden. Auf weitere Verwicklungen, die durch die veränderliche Bindekraft der haptophoren Seitenketten entstehen

und die E h r l i c h zur Annahme von Proto-, Deutero-, Tritotoxoiden geführt haben, kommen wir später zurück, ebenso auf die „Toxone“, eine Abart der Gifte, die sich durch die Eigenart ihrer toxophoren Gruppe, d. h. die Beschaffenheit der Giftwirkung unterscheiden sollen.

Es braucht kaum bemerkt zu werden, daß alle diese Vorstellungen, zu denen die E h r l i c h s c h e Giftanalyse geführt hat, nur einen vorläufigen, hypothetischen Charakter tragen und im Grunde nur unsere vollständige Unkenntnis über die chemische Natur der Impfgifte wie der übrigen Impfstoffe kennzeichnen. Fast wunderbar erscheint uns namentlich die Tatsache, daß jedem der unzähligen Antigene ein spezifischer Gegenkörper entspricht. Wie soll man sich solche Mannigfaltigkeit der bindenden Gruppen chemisch vorstellen? Vgl. § 266.

Wissen wir recht wenig über die chemische Natur der wichtigsten Infektionsgifte, so fehlt uns fast jede Kenntnis über die chemischen Reaktionen, die ihre krankheitserregende Wirkung bedingen. Auch nur wenige der Stoffwechselgifte machen allenfalls eine Ausnahme davon: es sind das zunächst die Säuren und Alkalien, die durch Änderung der Reaktion des Protoplasmas, also etwa durch Beeinflussung der Enzyme, schädlich wirken, ferner die Oxalsäure und ihre Salze, die nach L o e w ¹⁾ dadurch schaden sollen, daß sie die Kalziumverbindungen des Zellkerns (Nukleins) ausfällen, die salpetrige Säure und ihre Salze, die bei saurer Reaktion die Amidogruppe des Protoplasmas angreifen könnten²⁾. Dagegen ist uns schon die Wirkung des Alkohols unverständlich, obwohl wir vielleicht nach den bekannten Theorien O v e r t o n s ³⁾ und H. M e y e r s ⁴⁾ annehmen können, die Voraussetzung seiner Wirkung, wie derjenigen anderer Narkotika, sei seine Fähigkeit, sich in Lipoiden zu lösen und dadurch in die empfindlichen Zellen einzudringen. Was man von der Wirkung der übrigen weiß, beschränkt sich darauf, daß man Krankheitserscheinungen an den vergifteten Organismen, d. h. morphologische und funktionelle Störungen an ihnen beobachtet und in manchen Fällen durch Experimente die Angriffspunkte der Gifte zu kennen glaubt. Die Krankheitserscheinungen selbst werden uns erst in der Fortsetzung dieses Werkes (Infektionslehre) näher beschäftigen, hier sei nur erwähnt, daß man sie unter Umständen auch im Reagensglas und unmittelbar unter dem Mikroskop beobachten kann, so in erster Linie bei den h ä m o l y -

1) L ö w , Natürliches System der Giftwirkungen 1893. 119; vgl. auch Flora 1892. 376 und 385.

2) D e r s e l b e , Natürliches System usw. S. 61. Vgl. S. 617.

3) Studien über die Narkose 1901.

4) Arch. exper. Path. 1899—1901.

tischen Giften, die die Ausscheidung des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen veranlassen. Gerade hier zeigen sich aber so recht die Schwierigkeiten, die dem Chemiker erwachsen, wenn er die Wirkungen von Stoffen auf organisierte Gebilde auf ihre Ursache zurückführen soll. Obwohl nicht nur Stoffe unbekannter Zusammensetzung (Eigengifte) Hämolyse bewirken, sondern auch chemisch gut charakterisierte Körper, wie z. B. Alkalien und fettlösende Mittel, und obschon die chemische Beschaffenheit gerade der roten Blutkörperchen verhältnismäßig gut bekannt ist, gelangt man doch nicht dazu, den Vorgang der Hämolyse zu entschleiern, sondern höchstens gewisse physikalisch-chemische Tatsachen, wie z. B. den Einfluß der Giftkonzentration und Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Hämolyse, festzustellen (§ 314).

Die Hämolyse ist auch eine von denjenigen Giftwirkungen, deren Angriffspunkt man zu kennen glaubt, aber man weiß doch auch hier nur, daß es die rote Blutkörperchenzelle bzw. deren Stroma ist, die von den Giften angegriffen wird, nicht welcher Bestandteil des ungeheuren Molekülkomplexes der Zelle. Den Hämolysinen an die Seite zu stellen sind die Leukozidine (§ 317) und vielleicht noch einige Organgifte (§ 318). Ein anderes Beispiel von Organvergiftungen bietet die durch Tetanus-, Wurst- und Ruhrgift (bei Kaninchen). Hier sind es offenbar die Zellen des zentralen Nervensystems, auf die das Gift wirkt. Man schließt auf diese Lokalisation in erster Linie aus den Erscheinungen, die das Bild der Vergiftung ausmachen, in zweiter Linie aus Veränderungen in dem Gewebsbau, will aber außerdem noch aus sog. Absorptionsversuchen schließen, daß das Gift sich in ähnlicher Weise an die Nervensubstanz bindet, wie die Hämolysine an die roten Blutkörperchen. Wir werden später (§ 274) und namentlich in der Infektionslehre sehen, daß die letztere Behauptung sich kaum mit Sicherheit beweisen läßt. Bei den meisten anderen Vergiftungen ist man nicht so glücklich gewesen, die Verhältnisse auch nur soweit aufzuklären. Die Tatsache, daß das Gift an irgendwelche Körperzellen gebunden wird, belehrt uns auch noch nicht über die Art der Bindung, geschweige denn über die Natur der Wirkung. Ehrlich¹⁾ hat großen Wert darauf gelegt, daß diese Bindung bei den immunisierenden Giften eine andere, innigere sei, als bei den übrigen: er gründet ja auch darauf seine Aufstellung der „Haptine“ (= Antigene), die durch ihre haptophore Gruppe und die der Zelle in den Verband des Protoplasmas einträten. Bei den anderen, z. B. den chemisch gut gekannten Giften.

1) Beziehungen von chemischer Konstitution, Verteilung und pharmakologischer Wirkung, Gesammelte Arbeiten 1904. 572.

soll nach ihm ein solcher synthetischer Vorgang nicht eintreten, die Vorliebe mancher von ihnen für bestimmte Organe vielmehr meistens auf einen „Ausschüttelungsvorgang“, d. h. auf Unterschiede der Löslichkeit zurückzuführen sei. Daß derartige Dinge eine gewisse Rolle spielen, ist von Hans Meyer und Overton ja auch für die Narkotika (s. o.) wahrscheinlich gemacht worden. Sie sollen in die Nervensubstanz eindringen, weil sie in deren fettartigen Bestandteilen besonders löslich sind. Bei vielen Farbstoffen, die sich an feste Gewebsstoffe binden, nimmt man ebenfalls seit Witt an, daß dies in Form der „festen Lösung“ geschehe. Für andere Gifte und Farbstoffe genügt diese Erklärung aber nicht, sondern man muß, um ihre Bindung zu deuten, chemische Reaktionen zu Hilfe nehmen, z. B. die Bildung von Salzen. Damit nähern wir uns aber doch schon sehr den synthetischen Vorgängen. Wer will hier unterscheiden, ob diese Verbindungen stattfinden mit protoplasmatischen oder „paraplasmatischen“ Säure- oder Alkaligruppen? In manchen Fällen, z. B. wo sich Gerbsäure in Pflanzenzellen mit Methylenblau paart, wird letzteres zutreffen. Ist aber die Nukleinsäure, die alkalische Farbstoffe an den Kern fixiert, als ganz losgelöst vom Protoplasma zu betrachten? Dazu kommt, daß wir auch von manchen Giften, die anscheinend keine immunisierenden sind, annehmen müssen, daß sie doch sehr energisch gebunden werden¹⁾. Dahin gehören von bakteriellen Giften gewisse Hämolytine und die langsam wirkenden Leibesgifte, die man als kachexieerzeugende bezeichnen könnte (§ 280). Auch manche chemisch wohlbekannte Gifte besitzen die Eigentümlichkeit, sehr lange im Organismus festgehalten zu werden, werden also an irgendeiner Stelle gebunden sein¹⁾. Wie man sieht, sind die Unterlagen für die Ehrliche Auffassung ziemlich unsicher. Er selbst scheint sie übrigens in neuester Zeit fallen gelassen zu haben, namentlich auf Grund von chemotherapeutischen Studien an Trypanosomen, und spricht jetzt von „Chemorezeptoren“, die nicht zur Antikörperbildung befähigt sein sollen im Gegensatz zu den „Nutrirezeptoren“, die sie leisten können (S. 211).

Mag man sich die Bindung der Gifte im Organismus in dieser oder jener Weise vorstellen, eine eigentliche Erklärung für ihre Wirkung wird dadurch nicht im entferntesten geliefert. Warum wirkt der Alkohol berauschend, das Tetanusgift krampferzeugend, das Botulinus- und Ruhrgift lähmend, die „Bakterienproteine“ entzündungs- und fiebererregend? Wir können darauf keine Antwort geben aus dem einfachen Grunde, weil wir die chemischen

1) Vgl. auch S. Fränkel, Arzneimittelsynthese 2. Aufl. 1906.

Reaktionen, die diesen Lebenserscheinungen zugrunde liegen, nicht kennen. Immerhin können wir bei manchen bekannten Giften aus dem Umstande, daß sie ihrer Natur nach nicht zu kräftigen chemischen Leistungen befähigt sind, und aus der Tatsache, daß sie den lebenden Organismus in unverändertem Zustand wieder verlassen, vielleicht den Schluß ziehen, daß sie sich nicht unmittelbar oder wenigstens nicht dauernd an den stattfindenden Reaktionen beteiligen, nicht in ihnen aufgehen, sondern nur durch ihre Gegenwart wirken. L ö w nennt sie daher „katalytische Gifte“, ohne die Art der Reaktionen, zu denen sie in Beziehung stehen, näher zu bezeichnen. Unseres Erachtens sind sie am ehesten an die Seite zu stellen denjenigen Stoffen, die Fermentprozesse beschleunigen oder hemmen, den sogenannten Zymoexzitatoren und -paralysatoren¹⁾. Finden wir doch unter den Stoffwechselgiften dieselben Körper wieder, die im Reagensglas die Fermentierung beeinflussen. So kommen wir auf einem Umwege zu der Vorstellung, daß die Giftwirkung in diesen Fällen hinausläuft auf eine Steigerung oder eine Hemmung der normalen Fermentvorgänge, auf denen ja nach unserer Anschauung das ganze Zelleben wesentlich beruht. Die tatsächlichen Grundlagen, auf denen wir diese Hypothese weiter ausbauen könnten, sind freilich noch recht mangelhaft. Je nachdem die Gifte allgemein oder nur an einzelnen Stellen im Körper, z. B. im Nervensystem, gebunden werden, je nachdem dieser oder jener Fermentierungsvorgang beeinflußt wird, müssen die Erscheinungen der Vergiftung verschieden sein. Wir begnügen uns hier mit dem Hinweis, ohne auf Einzelheiten einzugehen.

Vielleicht kann diese Erklärung der Giftwirkung auch Anwendung finden auf manche Eigengifte der Mikroorganismen; wir denken dabei namentlich an diejenigen Leibesgifte, die örtliche Reizungen und Störungen des allgemeinen Stoffwechsels (Fieber) erzeugen (§ 280). Indessen legen verschiedene Umstände gerade für die eigentlichen Gifte der Bakterien eine andere Auffassung nahe: wie wir oben gesehen, ähneln sie ihrer Zusammensetzung und Darstellungsweise nach den Enzymen, verhalten sich auch schädigenden Eingriffen gegenüber wie diese. Dazu kommt dann noch, daß sie schon in kleinen Mengen bedeutende Leistungen entwickeln (§ 268). So tötet das Tetanusgift nach K n o r r und B e h r i n g Meerschweinchen und Pferde schon in einer Gabe, die den hundert- bis zweihundertmillionsten Teil ihres Körpergewichts kaum erreicht, ist also etwa hundertmal

1) § 247 u. 248. Vgl. auch L. L i e b e r m a n n, D. med. Woch. 1905, 33.

giftiger als Strychnin (§ 281). Das Wurstgift wirkt fast ebenso kräftig (§ 282). Man darf sich durch diese kleinen Zahlen allerdings nicht täuschen lassen: die genannten geringen Mengen Gift enthielten immer noch Billionen von Molekülen, wenn diese so groß wären wie die des Eiweißes; eine wirkliche Analogie zwischen Enzymen und Giften würde erst bewiesen sein, wenn man die Gewißheit hätte, daß die Stoffmenge, die mit den Giften reagiert, ein Vielfaches der Giftmenge ausmacht. Für eine derartige Schätzung haben wir aber gar keinen Anhalt, da wir die betreffenden Stoffe nicht kennen¹⁾. Wirkungen auf das Riechvermögen werden bekanntlich durch noch viel geringere Stoffmengen erreicht, ohne daß man bisher daran gedacht hätte, sie auf fermentative Kräfte zurückzuführen²⁾. Doch ist das natürlich auch kein Gegenbeweis gegen die Fermentnatur der Gifte. Wichtiger scheint der Einwand zu sein, daß die Gifte ungleich den Enzymen nicht nur an bestimmte Stellen des Organismus gebunden werden müssen, wenn sie Vergiftung hervorrufen sollen, sondern dort dauernd gebunden bleiben. Nach Ehrlich wäre die Bindung sogar eine so feste, daß an einen auch nur geringsten Ortswechsel des Giftes oder an eine periodische Lösung von den angegriffenen Molekülen nicht zu denken wäre. Und doch müssen wir das eine oder andere annehmen, wenn wir eine fermentative Wirksamkeit voraussetzen sollen. Diese Schwierigkeit ließe sich freilich umgehen, wenn man das Gift selbst nicht als das Ferment betrachte, sondern als einen „Zwischenkörper“, der eine bestimmte Fermentgruppe des Protoplasmas erst leistungsfähig macht, etwa in der Weise, wie die Enterokinase das Pankreasferment oder wie der Immunkörper das Alexin „aktiviert“. Mit einer solchen Erklärung kämen wir auf ein ähnliches Verhältnis zurück, wie wir es oben für die Stoffwechselgifte aufgestellt haben: die Gifte wirken nur mittelbar, dadurch daß sie die normalen (enzymatischen) Verrichtungen befördern oder hemmen.

Wenn wir die Analogie zwischen Enzymen und Eigengiften weiter verfolgen, erscheint die Beantwortung zweier Fragen bedeutungsvoll: lassen sich mit Giften Fermentwirkungen erzielen und rufen Enzyme auch Vergiftungen hervor? Im toten Nährboden erweisen sich die

1) K a s s o w i t z (Metabolismus und Immunität, 1907) gründet allerdings seine Theorie der Toxine und Antitoxine auf die Vorstellung, daß das Toxinmolekül nacheinander auf zahlreiche Protoplasamoleküle wirke, sie zum Zerfall bringe und dadurch die haptophoren Gruppen derselben als Antitoxine in Freiheit setze.

2) B e r t h e l o t findet z. B., daß ein Hundertmillionstel Jodoform noch gerochen wird (Annal. chim. phys. 7. sér. 22. 460, 1901, und Compt. rend. 138. 1250.)

Gifte völlig unwirksam, im lebenden besteht unzweifelhaft eine Ähnlichkeit zwischen manchen Gift- und Fermentleistungen, sie ist aber doch eine recht äußerliche. Gamaleia¹⁾ geht viel zu weit, wenn er die Bakteriengifte ganz allgemein der Gruppe der Gerinnungsfermente einreicht. Das ist weiter nichts als eine unbeweisbare Behauptung, die zudem wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat. Selbst bei denjenigen Giften, die am ehesten hierher gerechnet werden könnten (Diphtherie, Tuberkulose) ist es noch nicht ausgemacht, ob die Gerinnung der Gewebsbestandteile unmittelbar durch die Bakteriengifte oder nachträglich durch die Gewebsenzyme (durch „Koagulationsnekrose“) herbeigeführt wird, nachdem die Gifte ihre Wirkung getan, d. h. die Zellen getötet haben. Wir selbst neigen viel mehr zu der letzteren Auffassung, müssen aber dahingestellt sein lassen, ob der Tod der Zellen selbst dadurch veranlaßt wird, daß die Bakteriengifte hemmend in lebenswichtige Fermentierungen, z. B. Oxydationen oder dgl. eingreifen, oder sie über das zuträgliche Maß steigern.

Daß Enzyme in höheren Tieren ihrerseits auch giftige Wirkungen entfalten können, scheinen Erfahrungen zu beweisen, die von Hildebrandt²⁾, Kionka³⁾ u. a. gemacht sind. Doch darf man dabei nicht vergessen, daß die Darstellung der Fermente dieselbe ist wie die der Gifte, man also keine genügende Gewähr für die Reinheit der ersteren hat. Das gilt natürlich um so mehr für Enzyme wie die Zymase, die im Hefepreßsaft in einer Unmasse der allerverschiedensten Zellstoffe versteckt ist. Örtliche und allgemeine Reizungserscheinungen gehen ja auch von einfachen körperfremden Eiweißstoffen aus, wenn man sie in größeren Mengen Tieren einverleibt. Jedenfalls ist von einer spezifischen Giftwirkung der Enzyme nichts bekannt: lebende Zellen höherer wie niederer Organismen werden sogar von den Verdauungsfermenten so wenig angegriffen, daß man eine Erklärung dafür gesucht hat in der Annahme von Antienzymen, die die lebende Zelle erzeugen soll. Doch kommt es zunächst wohl darauf an, ob die betreffenden Enzyme überhaupt in den lebenden Zellkörper aufgenommen werden, was sehr zweifelhaft ist.

Nach dem Gesagten ist die Entscheidung darüber, ob die Eigengifte der Mikroorganismen Fermentnatur besitzen, vorläufig nicht zu liefern. Wir selbst neigen, wie gesagt, mehr zu der Auffassung, daß sie nur mittelbar die fermentativen Lebensprozesse beeinflussen.

1) Elemente der allgem. Bakteriologie 1900. 104.

2) Virchows Archiv 121, 122 und 131, 1890—1893.

3) Deutsche med. Woch. 1896. 38 und 51.

§ 257. **Bedeutung der Gifte für ihre Erzeuger.** Eine andere Frage verdient schließlich in dieser einleitenden Betrachtung der Gifte noch Erwähnung, nämlich die nach der Bedeutung der Gifte für das Leben ihrer Erzeuger. Von vornherein könnte man glauben, daß die für andere Mikro- oder Makroorganismen schädlichen Erzeugnisse der Mikroben den letzteren als Schutzmittel dienen. Diese zweckmäßige Bedeutung der Gifte ist allerdings in vielen Fällen unverkennbar, so die schützende Rolle der Stoffwechselprodukte im saprophytischen Leben (§ 48). Gerade aber bei den vom ärztlichen Standpunkte in erster Linie wichtigen Krankheitsgiften liegt die Sache keineswegs so klar. Wie wir schon an anderer Stelle (§ 51) ausgeführt, fragen wir uns vergebens, was z. B. den Tetanus- und Botulinusbazillen im Menschen und den Diphtheriebazillen mindestens im Tier ihr Gift nützt, da sie doch hier kaum zum Wachstum gelangen, sondern, soweit sie überhaupt in die Gewebe eindringen, früher oder später darin elend zugrunde gehen? Nur in einigen besonderen Fällen sind sie ihren Erzeugern nützlich, nämlich erstens, wenn sie aggressive Eigenschaften besitzen, d. h. das Wachstum ihrer Erzeuger im Tierkörper begünstigen. Das wäre vielleicht bei den sog. Endotoxinen der Fall, wenn wir annehmen könnten, daß sie mit dem Aggressinen identisch wären. Wir haben aber Grund, daran zu zweifeln (§ 321). Zweitens könnten die Gifte den Mikroben dadurch von Vorteil sein, daß sie ihre reichliche Abscheidung aus dem lebenden Körper herbeiführen. In der Tat gibt es anscheinend solche Gifte, z. B. diejenigen der hämorrhagischen Infektionen (Rinderpest, Milzbrand, Variola) oder die gewebezerstörenden und eiterungerregenden Stoffe von Bakterien und Pilzen, oder diejenigen des Typhus und Paratyphus, die es den Bakterien ermöglichen, leichter als andere Infektionserreger das Drüsengewebe der Nieren und Leber zu durchwandern. Die Voraussetzung dafür, daß sie zur Wirkung gelangen, ist aber immer wieder ihre reichliche Vermehrung im Körper, d. h. das Vorhandensein aggressiver Kräfte. Wir sehen auch, daß die Fähigkeit, Blutungen zu erzeugen, keineswegs eine regelmäßige Eigentümlichkeit der betreffenden Erreger ist.

Außerdem wissen wir, daß die gewebezerstörenden Vorgänge, die den Kleinwesen den Weg in die Außenwelt eröffnen, nämlich die Eiterung und der Zerfall der Granulationsgeschwülste, gerade die stärkste keimvernichtende Wirkung besitzen. So kommt es z. B., daß die Pestbazillen der Bubonen, wenn letztere vereitert sind und aufbrechen, allermeist abgestorben sind. Also ziehen die Bakterien aus ihrer eitererregenden Fähigkeit keinen Vorteil. [So kommen wir zu dem Ergebnis, daß die sog. Entzündungs- (und Fieber-) Gifte, die allen Mikroben eigen sind (§ 280), obwohl ihre Wirkungen einen

wesentlichen Teil des sog. Krankheitsbildes bei Infektionen ausmachen, eigentlich den Namen Gifte gar nicht verdienen, weil sie für den angegriffenen Tierkörper im allgemeinen günstige Gegenwirkungen — „Reaktionen“ — gegen die Infektion auslösen. Wir werden daher diesen Stoffen noch einmal begegnen, wenn wir von den Reizstoffen handeln (§ 331). Da wir durch große Gaben dieser Stoffe aber auch echte Giftwirkungen erzielen können, sollen sie in der Giftlehre einen Platz behalten.

Die Typhus- und Paratyphusbazillen ziehen ferner zwar einen bedeutenden Nutzen aus ihrer Fähigkeit, in den Urin und die Galle überzugehen. Das hat aber kaum mit ihren Giften etwas zu tun, sondern wesentlich nur mit ihrem Vermögen, sich in diesen Sekreten massenhaft zu vermehren.

Ebensowenig kann man schließlich den Einwand erheben, daß die Gifte dadurch ihren Erzeugern von Vorteil seien, daß sie unter Umständen den Tod der Wirtstiere herbeiführen. Denn damit verbessern sich keineswegs regelmäßig die Aussichten der Giftbakterien auf Fortdauer ihres eigenen Lebens.

Wir müssen daher die Giftigkeit der Mikrobenstoffe vielfach als eine mehr zufällige, für ihr Leben unwesentliche Eigenschaft betrachten, finden übrigens ähnliche Verhältnisse auch bei vielen anderen Giften, z. B. des Pflanzenreichs.

§ 258. Stoffwechselgifte. Als Stoffwechselgifte haben wir (S. 790) diejenigen Gifte der Kleinwesen bezeichnet, die bei den gewöhnlichen Stoffwechselvorgängen, z. B. den sog. Gärungen, als Haupt- oder Nebenzeugnisse entstehen. Der Ausdruck „chemisch bekannte“ Gifte besagt dasselbe. Sie haben, soviel man bisher weiß, die negative Eigenschaft gemein, im vergifteten Tier keine Gegengifte zu erzeugen, manche rufen aber bei wiederholter Anwendung Gewöhnung hervor. Über die Art und Weise, wie sie ihre Giftwirkung entfalten, wissen wir wenig (S. 795). Im allgemeinen darf man wohl sagen, daß ihre praktische Bedeutung als Infektionsgifte eine geringe ist, schon aus dem Grunde, weil sie meist in zu kleiner Menge hervorgebracht werden; nur die salpetrige Säure soll nach Emmerichs wenig wahrscheinlicher Vermutung eine Ausnahme machen, indem sie das Choleragift darstelle. Bei den Pflanzenkrankheiten wird ihre Bedeutung schon deswegen eine größere sein, weil in den Pflanzen die Kohlenhydrate, die hauptsächliche Quelle von Stoffwechselprodukten, reichlich vorkommen, und auch die Pflanzenparasiten gewöhnlich energische Zersetzungserreger sind. Namentlich die Oxalsäure wird hier als Gift angeschuldigt. Alle giftigen Zersetzungsstoffe kommen dagegen

bei der saprophytischen Lebensweise der Mikroben so sehr in Betracht, daß manche Forscher die Gärung, die sie erzeugt, geradezu als Schutzmittel der Gärungserreger im Wettbewerb mit anderen Mikroben betrachten (S. 162). Insofern ist dieses Schutzmittel allerdings zweischneidiger Art, als sich die Gifte bei stärkerer Anhäufung auch gegen die eigenen Erreger kehren können (Selbstgifte § 47). Ein doppeltes Gesicht zeigt auch der Alkohol, das Erzeugnis der Hefe: in kleinen Gaben genossen, ist er ein Reiz- und Genußmittel allerersten Ranges, eine Quelle der Stärkung und Freude für die Menschheit, in großen Mengen wird er zum allergefährlichsten Gift, zu einer der wichtigsten Ursachen von Krankheit, Entartung und Tod. Viel weniger Bedeutung haben andere fertig gebildete Gifte, die wir mit der Nahrung oder Atemluft einführen.

Fast alle hierher gehörigen Stoffe haben wir schon bei Besprechung der einzelnen Stoffwechselvorgänge erwähnt. Wir besprechen zuerst die anorganischen Gifte (meist Gase), organischen Säuren, Alkohole usw. der Fettsäurereihe und aromatischen Stoffe. Dazu kommen dann in § 259 die organischen Basen, die man als *P t o m a i n e* bezeichnet und früher sehr überschätzt hat, und schließlich in § 260 eigentümliche Gifte, die man als Fette betrachten kann.

Salpetrige Säure wird von vielen Mikroorganismen aus Salpetersäure gebildet (§ 197). Auf die Mikroorganismen selbst scheint sie in der Form, in der sie gewöhnlich auftritt, d. h. als Salz, nicht schädlich zu wirken. Werden doch salpetrige Salze zum Teil als Stickstoffquelle ausgenutzt (S. 110) oder wenigstens meist noch bis zu 0,1% gut vertragen (*M a a ß e n* § 198). Die freie Säure wird dagegen nicht assimiliert, sondern ist für Hefepilze und Bakterien giftig. Doch tritt diese Giftigkeit wohl selten hervor, schon aus dem Grunde, weil die salpetrige Säure mit dem gleichzeitig durch den Stoffwechsel entwickelten Ammoniak oder mit Amiden sich zu Stickstoff und Wasser umsetzt (S. 616).

Im Tierkörper sind zwar auch die Nitrite in gewissen Gaben giftig, doch rufen Gaben von einigen Dezigrammen beim Menschen noch kaum Erkrankung oder mindestens keine choleraähnlichen Erscheinungen hervor¹⁾. Bei Tieren ist es ähnlich. In Versuchen, die *B ü r g e r s* jüngst in meinem Laboratorium angestellt, erwiesen sich erst Gaben von 0,15 g auf das Kilo Gewicht bei Meerschweinchen und Hunden vom Magen oder vom Duodenum aus binnen höchstens einer Stunde tödlich, etwas kleinere wurden aber vertragen, selbst wenn sie mehrmals am Tage wiederholt wurden. Deutliche Veränderungen am Darne wurden dabei

1) *S. K u n k e l*, Toxikologie, 1901, S. 308 ff.

vermißt. Die Brechbewegungen und Durchfälle scheinen wesentlich nervösen Ursprungs zu sein. Daß schädliche Nitritmengen selbst bei Einführung von großen Mengen von salpetersauren Salzen im Darmkanal durch Bakterienwirkung entstehen könnten, ist von vornherein wenig wahrscheinlich. Vergiftungen an Haustieren durch Nitrate kommen zwar vor und lassen sich auch an Versuchstieren hervorrufen, beruhen aber, wie wir bestätigen können, nicht auf Nitritvergiftung. In den seltenen Fällen sogenannter enterogener Zyanose, die von H y m a n s und G r u t t e r i n k ¹⁾ beschrieben worden sind, mag trotzdem dieser Zusammenhang vielleicht möglich sein. Wenn E m m e r i c h im Verein mit T s u b o i ²⁾ und G e m ü n d ³⁾ und neuerdings wieder E m m e r i c h allein⁴⁾ nun aber auch die Cholera asiatica als Nitritvergiftung aufgefaßt wissen wolle, so erscheint das mehr als gewagt. E m m e r i c h stützt sich hauptsächlich auf zwei Gründe: erstens soll der Cholerakollaps einer Vergiftung durch salpetriger Säure täuschend ähnlich sein, und zweitens in dem Erbrochenen sowie teilweise auch in den Stühlen der Cholerakranken diese Säure regelmäßig in reichlichen Mengen nachweisbar sein. Was den ersten Punkt anlangt, so besteht ja aber doch die Cholera nicht allein in diesem Kollaps, sondern ganz wesentlich in den Erscheinungen von seiten des Darmes, und gerade diese lassen sich mit Vergiftungen durch salpetrige Säure nicht vergleichen. Wo finden wir jemals bei letzteren die gewaltigen Exsudationen in dem Darme, die bezeichnend sind für die Cholera? Der Nachweis von salpetriger Säure namentlich im Erbrochenen von Cholerakranken, den E m m e r i c h neuerdings geliefert und den auch S t ü h l e r n ⁵⁾ bestätigt hat, scheint zunächst allerdings eine gewichtige Stütze zu sein. Im anderen Lichte erscheint er aber, wenn wir von S t ü h l e r n hören, daß er auch bei anderen Erkrankungen des Magens, die nichts Choleraähnliches an sich haben, z. B. bei Hyperazidität, oft in ähnlicher Stärke gelingt, und wenn, wie es E m m e r i c h selbst nicht leugnet, die salpetrige Säure (durch die Methämoglobinreaktion bzw. das G r i e s s c h e Reagens) im Blute der Cholerakranken nur ausnahmsweise bzw. nur in Spuren auffindbar ist⁶⁾. Es ist recht willkürlich, mit E m m e r i c h anzunehmen, daß eine tödliche Vergiftung eben schon durch solche verhältnismäßig

1) Berl. klin. Woch. 1906. 1, vgl. auch die Fälle von Hyperazidität im Magen, die S t ü h l e r n erwähnt (s. u.)

2) Münch. med. Woch. 1893, 25, 26 und 32.

3) Ebenda 1904. 26.

4) Ebenda 1909. 38 und 40.

5) Medizin. Klin. 1909, 50. Verh. Naturf. u. Ärzte 1910, Abt. 28.

6) Vgl. H y m a n s und G r u t t e r i n k, Berl. klin. Woch. 1909. 45 und E m m e r i c h, ebenda 1910, 28.

kleine Mengen salpetriger Säure — begleitet von Stickoxyd — verursacht werde. In B ü r g e r s¹⁾ Versuchen am Meerschweinchen und Hunde war, wenn überhaupt der Tod durch Zufuhr von Nitrit erfolgt war, dasselbe stets mit Leichtigkeit im Blute nachweisbar, ebenso auch bei den Fällen von enterogener Zyanose des Menschen (s. o.). Es wäre außerdem sehr verkehrt, bloß aus der Anwesenheit der salpetrigen Säure im Magendarminhalt — wir setzen dabei voraus, daß es sich um g e n ü g e n d g r o ß e M e n g e n davon handelt, was bisher nicht ausreichend bewiesen ist — zu schließen, daß sie auch dem Körper gefährlich werden müsse. Das wäre nur der Fall, wenn es sich um einen gesunden bzw. in normalem Grade resorptionsfähigen Verdauungskanal handelte. Gerade davon kann aber bei der Cholera gar keine Rede sein. Hier besteht vielmehr ein mächtiger Flüssigkeitsstrom von der Darmwand nach dem Darminnern, also überhaupt keine Resorptionsmöglichkeit in dem gewöhnlichen Sinne. Nur durch Diffusion könnte ein Teil des im Magendarminhalt gebildeten Giftes in den Kreislauf gelangen. Wieviel das aber ist, läßt sich vorläufig nicht sagen.

Wenn sonach die Emmerichsche Beweisführung nichts weniger wie überzeugend ist, so kommen noch andere Bedenken hinzu. Wo kommen die Nitrate her, deren Umwandlung zu Nitriten die Cholera der nur mit Mutter- oder Kuhmilch genährten Säuglinge verursachen? Wie erklärt es sich, daß S c h i d o r s k y¹⁾ und B ü r g e r s in meinem Laboratorium bei der experimentellen Darmcholera des Meerschweinchens die salpetrige Säure im Darminhalte, der von Cholerabazillen wimmelte, ebenso vermißten wie im Blute? Ist es überhaupt sicher, daß es die Cholerabazillen sind, die die Nitritreaktionen beim cholera-kranken Menschen hervorrufen? Müssen wir nicht vielleicht nach anderen Ursachen als bakteriellen dafür suchen, wenn wir ähnliche Reaktionen z. B. bei überreichlicher Sekretion von Salzsäure im Magen (s. o.) auftreten sehen?

Die Erörterung über die Emmerichsche Gifttheorie der Cholera würde überflüssig sein, wenn es bisher in unwiderleglicher Weise gelungen wäre, eine andere Lehre zu beweisen. Wir werden später (§ 284) sehen, daß zwar manche Tatsachen für die Auffassung sprechen, daß die Leiber der Cholerabazillen — ihr Endotoxin — für die Cholera-vergiftung verantwortlich zu machen sind, leider ist ihre Wirkung von der Darmschleimhaut aus aber nicht so überzeugend darzulegen, wie es wünschenswert wäre.

S c h w e f e l w a s s e r s t o f f ist zwar ein häufiges Bakterien-erzeugnis (Kap. XI), entsteht aber nur in Ausnahmefällen so reichlich,

1) Verh. Gesellsch. Naturf. u. Ärzte in Königsberg 1910. Abt. 28.

daß er giftig wirken kann. Eine gewisse Menge wird bekanntlich regelmäßig durch die Mikroorganismen im Darm entwickelt, gelegentlich steigt sie aber so, daß eine Autointoxikation eintritt¹⁾. Auch im Blutserum von an Rotlauf gestorbenen Schweinen haben Petri und Maassen²⁾ zuweilen das Schwefelmethämoglobin nachweisen können. Wenn sie auch andere Gifte der Rotlaufbazillen nicht darzustellen vermochten, so beweist das natürlich noch nichts für die Bedeutung des Schwefelwasserstoffs als Infektionsgift. Akute und chronische Vergiftungen durch Schwefelwasserstoff, der in Abortgruben durch Bakterien gebildet wird, sind nicht selten beobachtet worden. Der Gehalt der Grubenluft an Gas steigt allerdings bis zu 8%.

Arsenwasserstoff oder andere flüchtige Arsenverbindungen entwickeln manche Schimmelpilze aus arsenhaltigen Nährböden (§ 215). Sie sind am knoblauchartigen Geruch zu erkennen. Man schiebt ihnen wohl mit Recht die Schuld an den Arsenvergiftungen zu, die früher nicht selten in Wohnräumen mit arsenhaltigen Anstrichfarben oder Tapeten beobachtet worden sind.

Ammoniak entsteht bei der Eiweißzersetzung durch Mikroorganismen regelmäßig in teilweise bedeutenden Mengen (§ 171 u. 172). Die alkalische Reaktion, die davon gewöhnlich die Folge ist, pflegt schließlich das Wachstum zu hemmen. Hier wirkt also das Ammoniak als Selbstgift (§ 47), in Mischkulturen als Fremdgift (§ 48). Besonders kräftige Ammoniakentwickler sind die Harnstoffbakterien, sie erdrücken jede andere Flora neben sich. Im tierischen Körper kommt es wohl niemals zur Ammoniakvergiftung durch Bakterien. Höchstens übt die Harnstoffgärung, wenn sie in der Harnblase erfolgt (*Bac. proteus*), einen Reiz auf die Schleimhaut aus. Im Reagensglas kann man in stark alkalischen Kulturen Hämolyse beobachten (§ 312).

Das Sumpfgas, das bei vielen Zersetzungen entsteht, hat wohl nur durch seine Explosionsfähigkeit eine Bedeutung. Auch sie kommt aber kaum anders als in Kohlengruben zur Geltung, wo seine Bildung durch Mikrobientätigkeit noch nicht sicher feststeht (§ 118).

Auch der Kohlensäure kann man, wenn sie bei der alkoholischen und anderen Gärungen in Masse erzeugt wird, einen schädlichen Einfluß vor allem auf luftliebende Organismen zuschreiben. Ihr Werk ist bekanntlich auch oft genug die Vergiftung von Menschen in Gärkellern, tiefen Brunnen usw.

1) Senator, Berl. klin. Woch. 1868, 24; Pohl, Arch. exper. Path. 14. 135, 1887; vgl. auch die Fälle von Sulfhämoglobinämie bei Hyman und Grutterink, Berl. klin. Woch. 1906, 1.

2) Arbeit. Kais. Gesundheitsamt 8, 1893.

O r g a n i s c h e S ä u r e n entstehen bei den verschiedenen Arten der sauren Gärung (§ 97—110, 113—115 usw.), es sind, um nur die wichtigsten zu nennen, Milchsäure, Essigsäure, Buttersäure und Oxalsäure. Auf die Mikroorganismen, die sie erzeugen, wirken sie schließlich wachstumshemmend, noch stärker meist auf fremde. Bis zu einem gewissen Grade kann man hier von einem spezifischen Einfluß sprechen, die Essigbakterien vertragen die Essigsäure, die Milchsäurebakterien die Milchsäure am besten. Für Tiere kommt als schädigendes Moment nur die **S ä u r e b i l d u n g** i m **D a r m k a n a l** in Betracht, und auch wohl nur bei empfindlichen Individuen, vor allem beim menschlichen Säugling. Während eine geringe Menge von Säure für die Verdauung günstig zu sein scheint, insofern sie den notwendigen Reiz für die Darmperistaltik abgibt, wirken größere Mengen vielleicht schädlich. **C z e r n y** und **K e l l e r**¹⁾ führen sogar die wichtigsten Ernährungsstörungen der Säuglinge, ihre „alimentären Toxikosen“, auf saure Zersetzungen der Nahrung zurück. Sie sollen teils außerhalb des Körpers — namentlich unter dem Einfluß der Sommertemperatur —, teils innerhalb des Darmes, und zwar bald durch Spaltung der Kohlenhydrate, bald durch solche der Fette, erfolgen. Der Mechanismus wäre im wesentlichen der, daß zunächst die Magendarmschleimhaut durch die Säuren zur überreichlichen Absonderung von Flüssigkeiten, zu Brechen und Durchfall gereizt wird. Der daraus sich ergebende Wasserverlust und die gleichzeitig erfolgende Überschwemmung des Körpers mit Säure (Säurevergiftung, Azidose²⁾) wirken beide schädlich und erklären im wesentlichen Krankheiterscheinungen und Tod. Die Beweise für diese Theorie sind vorläufig noch recht dürftig. Hauptsächlich beruhen sie auf den Versuchen **B o k a y s**³⁾, welche die schädliche Wirkung der Säuren, namentlich der Butter-, Ameisen-, Propion-, Essig-, Kapron- und **K a p r y l s ä u r e** für die Darm-schleimhaut darlegen. Der schädliche Überschuß von Säure ist bisher nur ausnahmsweise in der aufgenommenen oder verdauten Nahrung gefunden worden. Eine Stütze für die Theorie kann man freilich auch hier wieder (vgl. oben S. 805) darin erblicken, daß wir die gewöhnliche Ansicht, nach der nicht die bekannten Stoffwechselprodukte der Bakterien, sondern deren chemisch schlecht bekannten Eigengifte die Ursache dieser „Sommerdiarrhœe“ oder „Cholera nostras“ der Säug-

1) Des Kindes Ernährung usw. 7. Abt., S. 134 ff. 1909.

2) Nicht zu verwechseln mit der Säurevergiftung, die nach **K e l l e r** und **S t e i n i t z** die sog. Atrophie der Säuglinge erklären, aber nicht durch bakterielle Zersetzungen der Nahrung bedingt sein soll (vgl. **C z e r n y** u. **K e l l e r** a. a. O. 6. Abt., S. 11 ff.).

3) Arch. experim. Path. 24.

linge sind, vorläufig kaum besser beweisen können (vgl. Streptokokken § 295, Colibazillen § 288 und Heubazillen § 301). Jedenfalls sind spezifische Erreger nur für einzelne Fälle nachgewiesen (vgl. Dysenterie und Pseudodysenterie § 289), und wird u. E. die Bedeutung der eigenen Darmbakterien für die Erkrankung unterschätzt (vgl. Infektionslehre).

Die *Oxalsäure*, die von vielen Schimmelpilzen, aber auch von Bakterien gebildet wird (§ 122 u. 172); nimmt eine besondere Stellung unter den Säuren ein, weil sie für pflanzliche und tierische Protoplasmen stark giftig ist. Manche Erreger von Pflanzenkrankheiten, z. B. die *Pseudomonas destructans* Potters¹⁾, scheinen durch Oxalsäurebildung schädlich zu werden. Daneben kommen freilich noch Eigengifte in Betracht.

Alkohole. In größeren Mengen produziert werden von den Mikroorganismen Äthyl-, Butyl- und Amylalkohol, nur der erstere aber wohl in so großen, daß er Schaden stiften kann. Auch hier wieder zeigt sich, daß die Hefepilze, die den Alkohol durch Gärung erzeugen, gegen ihn weniger empfindlich sind, als die übrigen Lebewesen, doch steht die Gärung, wie wir S. 269 gesehen, still, wenn ein gewisser Gehalt an Alkohol erreicht ist. Nebenhergehende Wucherungen von anderen Organismen werden aber viel früher unterdrückt. Auf die bekannten Wirkungen des Alkohols beim Menschen haben wir schon oben (S. 803) hingewiesen. Die Giftigkeit des Amylalkohols, eines Nebenprodukts der Gärung, das aus Eiweiß (Aminosäuren), nicht wie der Äthylalkohol aus Kohlenhydraten entsteht (§ 173), ist früher stark übertrieben worden.

Aldehyde werden von Mikroorganismen nur in Spuren gebildet. Einen Ausnahmefund stellt der eines aldehydartigen giftigen Körpers von der Formel $C_8H_{16}O_4$ dar, den Kerry und Fränkel (vgl. S. 506) in Kulturen des malignen Ödems beobachteten.

Aromatische Stoffe. Beim Abbau der Eiweißkörper durch Mikroorganismen entstehen, wie wir § 168 ff. gesehen, sehr häufig giftige aromatische Stoffe aus den aromatischen Aminosäuren, so Phenol, Indol, Skatol usw. Wir haben diese Stoffe, weil sie vielleicht in gewissem Grade an der Wirkung der Stoffwechselprodukte auf die eigenen und fremden Keime beteiligt sind, schon im § 47 u. 48 erwähnt. Die bei der Autolyse der tierischen Organe sich bildenden bakteriziden Körper gehören wohl auch hierher²⁾. Auch im Darm der Tiere entstehen diese aromatischen Stoffe neben den normalen Verdauungsprodukten, werden in den Körper aufgenommen und durch den Urin — gewöhnlich mit Schwefelsäure oder Glykuronsäure gepaart — wieder ausgeschieden. In den gewöhnlichen Mengen werden sie nicht

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 354:

2) Conradi, Hofmeisters Beitr. 1. 204, 1902.

giftig wirken, vielleicht aber, wenn sie z. B. bei Stuhlverstopfung, Kotverschluß und anderen Darmstörungen reichlicher gebildet werden. Doch sind diese Selbstvergiftungen vom Darm her noch nicht genügend aufgeklärt (s. o. Nitrit- und Schwefelwasserstoffvergiftungen). Näheres in der Infektionslehre. Hier wie bei anderen Fäulnisprozessen im lebenden Körper (Gangrän) werden vielleicht auch die basischen Abkömmlinge des Eiweißes eine größere Rolle spielen (§ 259). Über die Gossiosche Theorie, nach der aromatische Stoffe die Pellagra verursachen sollen, s. u. § 307.

§ 259. Organische Basen. Ptomaine. Daß in faulenden Stoffen, z. B. in Leichnamen Gifte gebildet werden, weiß man schon seit den Tierversuchen Albrecht von Hallers und namentlich Gaspards¹⁾, Magendies²⁾, Stichs³⁾ u. a.⁴⁾. Obwohl man damals naturgemäß noch nicht scharf genug die Wirkungen der im „putriden Gift“ und „Leichengift“ enthaltenen chemischen Schädlichkeiten und der lebenden Krankheitserreger auseinanderhalten konnte, unterliegt es wegen der Schnelligkeit ihres Auftretens keinem Zweifel, daß die Hupterscheinungen, die die genannten Forscher bei Tieren (Hunden, Kaninchen, Pferden), denen sie Faulflüssigkeiten der verschiedensten Art einspritzten, beobachteten, als Giftwirkungen betrachtet werden müssen. Am stärksten waren sie bei Einführung in die Venen, am schwächsten, aber immerhin oft noch deutlich, bei Einführung in den Magen (Stich). Neben nervösen Störungen machte sich vor allem beim Hunde eine hämorrhagische Entzündung der Darmschleimhaut, die in erster Linie den obersten und untersten Darmabschnitt betraf, geltend. Gaspard zeigte schon durch besondere Versuche, daß die Giftigkeit der Faulflüssigkeiten nicht auf die bei der Fäulnis gebildeten flüchtigen Stoffe, wie Kohlensäure, Schwefelwasserstoff oder Ammoniak, zurückgeführt werden könnte. Das putride Gift „extraktförmig“ darzustellen, gelang aber erst Panum⁵⁾. Er gewann es in der Weise, daß er faulende Aufgüsse von Hundefleisch, Hirn, Bindegewebe usw. oder Aufschwemmungen von Dickdarminhalt und Stuhlentleerungen durch doppelte Lagen von Filtrierpapier unter negativem Druck bis zur vollständigen — auch mikroskopisch bestätigten — Klarheit fil-

1) Journ. de physiol. 2 und 4, 1822 und 1824.

2) Ebenda 3, 1823.

3) Annal. der Charitékrank. 3, 1853.

4) Vgl. Lit. bei Hiller, Lehre von der Fäulnis, 1879, und Gusenbauer in Deutsche Chirurgie 5. 1882.

5) Bibliothek for Læger 1856; vgl. auch Schmidts Jahrbuch. 39. 213 und Virchows Archiv 50. 301, 1874.

trierte, dann mehrere Stunden kochte, im Wasserbade trocknete, mit kaltem und kochendem Alkohol auszog, in kochendem Wasser löste und heiß filtrierte. 32 ccm der so gewonnenen Flüssigkeit, die 12 mg feste Stoffe enthielt, genügten in einem Beispiel, um bei einem kleinen Hund binnen wenigen Stunden Brechbewegungen, Stuhlzwang. Sehnenkrämpfe, Sträuben der Haare, Schwäche bis zum Kollaps hervorzurufen. Der Magen und Darm des nach 23 Stunden getöteten Tieres zeigte Rötung und Schwellung. Im ganzen entsprach das Vergiftungsbild demjenigen der putriden Intoxikation, die durch unmittelbare Einspritzung von Faulflüssigkeit hervorgerufen wurde. Zum Beispiel töteten 24 ccm der oben benutzten Faulflüssigkeit, die aber nur klar filtriert und nicht weiter behandelt worden war und 71 mg Trockensubstanz enthielt, einen kleinen Hund in 6 Stunden. Auch hier kann natürlich nicht von der Wirkung lebender Bakterien, sondern nur von Vergiftung die Rede sein. In einem Falle war selbst elfstündiges Kochen nicht imstande, die Giftigkeit der (filtrierten) Faulflüssigkeit aufzuheben, wenn es sie auch stark abschwächte. P a n u m machte dabei die Beobachtung, daß auch die durch das Kochen abgeschiedene eiweißartige Substanz in der Größe einer Erbse eine ähnliche Vergiftung bewirkte wie 32 ccm der davon abfiltrierten Lösung. Er erklärt das aus einer Kondensation des Giftes an dem ausgefallenen Eiweiß. Die beim Kochen überdestillierten Stoffe waren ungiftig. Über die Natur seines putriden Giftes läßt sich P a n u m nicht aus. O. W e b e r¹⁾, H e m m e r²⁾, S c h w e n i n g e r³⁾ und namentlich E. B e r g m a n n⁴⁾ bestätigten insofern die P a n u m'schen Befunde, als sie mit gekochter Faulflüssigkeit ähnliche Wirkungen am Tier erzielten. Die Versuche B e r g m a n n's, die zur Entdeckung eines chemisch gut charakterisierten Giftes, des S e p s i n's, führten, sind methodologisch auch jetzt noch so wichtig, daß über sie hier kurz berichtet werden soll.

B e r g m a n n ging aus vom Studium des faulen Blutes, das die Erscheinungen der putriden Intoxikation hervorruft. Während es vom Magen aus keine Krankheitserscheinungen bewirkt, die Einspritzung in das Unterhautfettgewebe weniger das Bild der allgemeinen Vergiftung als örtliche Veränderungen hervortreten läßt, tötet die Einspritzung in die Venen in Mengen von 6—20 ccm Hunde im Laufe weniger bis höchstens 24 Stunden und verursacht auch in kleinen Gaben derartige Störungen.

1) C a n s t a t t's Jahresber. 1864 II 83.

2) V i r c h o w - H i r s c h, Jahresber. 1866. I. 194.

3) V i r c h o w - H i r s c h, Jahresber. 1866. I. 194.

4) Das putride Gift und die putride Intoxikation. Dorpat 1868. und Deutsche Zeitschr. f. Chir. 1, 1872.

daß man an der Vergiftung nicht zweifeln kann. Das Tier ist nach der Einspritzung filtrierten Bluts gewöhnlich wie betäubt oder doch sehr schwach, die Pupillen sind erweitert, es erfolgt Erbrechen, Entleerung von Kot oder starkes Drängen, später flüssige, bluthaltige Entleerungen. Die Haut ist gallig gefärbt. Die Temperatur ist, wenn der Tod nicht zu früh erfolgt, erhöht. Bei dem Tode findet man regelmäßig Blutungen an verschiedenen Stellen des Magendarmkanals, besonders im Magen und Dickdarm, in den inneren Organen namentlich im Endokard des linken Herzens. Die Milz ist gewöhnlich geschwollen und mit Blutungen durchsetzt. Das Blut bleibt in den großen Gefäßen flüssig. Die Versuche, das Gift aus dem faulen Blut zu gewinnen, waren wenig erfolgreich. Das bloße Aufkochen setzt die Giftwirkung auf weit weniger als den vierten Teil der ursprünglichen herab; Neutralisieren oder Ansäuern auf die Hälfte. Wird die auf diese Weise von der Hauptmasse des Eiweißes befreite Flüssigkeit eingedampft, so verringert sich die Giftigkeit weiter sehr erheblich, auch wenn es im luftleeren Raum bei 40° geschieht. Durch Alkohol wird der größte Teil der wirksamen Substanz gefällt, ein Teil geht aber auch in den Alkohol über. Das Dialysat des Alkoholniederschlags ist giftig, aber ebenso der im Dialysator gebliebene Rest. Bei diesem Verfahren wie bei der Anwendung anderer Fällungsmittel gelang keine vollständige Trennung des Giftes und alle schwächten es erheblich. Die Versuche hatten aber wenigstens ergeben, daß das Gift diffusionsfähig und alkohollöslich war, es lag nahe, die Schwierigkeit seiner Darstellung in dem hohen Eiweißgehalt des Blutes zu suchen. Da aber nicht bloß stark eiweißhaltige Flüssigkeiten wie Hühnereiweiß, Fibrin, Leim, Käse, Serum, Eiter, Fleischwasser, sondern auch die eiweißarmen Heu- und Pflanzenaufgüsse, Hefe und sogar die ganz eiweißfreie Pasteursche Nährlösung im Zustand der Fäulnis das Bild der putriden Intoxikation erzeugten, so konnte man hoffen, aus den letzteren das Gift leichter darstellen zu können. Die Erwartung erfüllte sich aber nur beim Arbeiten mit fauler Hefe. Merkwürdigerweise enthält diese, obwohl sie stark sauer reagiert, das putride Gift in ähnlicher Stärke wie das stark alkalische faule Blut. Zunächst gelingt es, aus der faulen Hefe durch Dialyse und Abdunsten im luftleeren Raum eine fast eiweißfreie kräftig wirkende Lösung zu erhalten. Diese enthielt aber noch sehr viel fremde Bestandteile. Erst durch ein im Verein mit Schmiedeberg gearbeitetes Verfahren erhielt Bergmann das anscheinend reine Gift. Das alkalisch gemachte Dialysat der faulen Hefe wurde mit Sublimatlösung niedergeschlagen, der Niederschlag durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die von Schwefelquecksilber abfiltrierte Flüssigkeit durch kohlen-saures Silber von der Salzsäure befreit, das überschüssige Silber durch Schwefelwasserstoff entfernt, und die alkalisch reagierende Flüssigkeit im Vakuum zum Trocknen eingedampft. Der Rückstand wurde jetzt in Alkohol gelöst und die alkalische Lösung mit schwefelsäurehaltigem Alkohol versetzt, wobei feinste Kristallnadeln, des schwefelsauren Sepsins“, die sich durch Umkristallisieren reinigen ließen, niederfielen. 0,01 g davon genügte, um die Erscheinungen der putriden Intoxikation beim Hunde hervorzurufen. Die Aufgabe schien damit gelöst, indessen macht Bergmann selbst darauf aufmerksam, daß die Wirkung des reinen Giftes doch eine andere war, als die der Faulflüssigkeiten selbst. Sie ging schneller vorüber und die blutige Darmerkrankung fehlte zwar nicht, war aber unbedeutender. Außerdem war die Ausbeute an Gift nicht

nur eine verschwindend geringe, sondern auch sehr unbeständig. Oft waren die erhaltenen Kristalle ohne jede Wirkung.

Die leichte Zersetzlichkeit des Giftes ist der Grund, daß seine Kenntnis sehr wenig weitere Fortschritte gemacht hat. Erst in jüngster Zeit ist es *F a u s t* (s. u.) gelungen, den chemischen Bau des Sepsins aufzudecken. Eine befriedigende Darstellungsmethode ist aber auch jetzt noch nicht gefunden. Das ist sehr bedauerlich, denn unter allen Bakteriengiften, deren chemische Zusammensetzung man kennt, scheint gerade dieses durch seine weite Verbreitung in Faulflüssigkeiten und seine kräftige und charakteristische Wirkung verhältnismäßig die größte Bedeutung zu besitzen. Das hindert nicht, daß die Fäulnis neben dem Sepsin noch zahlreiche andere Gifte erzeugt. Eine weitere Möglichkeit ist freilich nicht aus dem Auge zu lassen: die Haupterscheinungen der Fäulnisvergiftung könnten auch durch Stoffe anderen, verwickelteren Baues erzeugt werden. Darauf deuten außer *P a n u m*s Mitteilungen schon Beobachtungen *B e r g m a n n*s. *B e r g m a n n* fand nämlich, daß das putride Gift in *P a s t e u r*scher Nährlösung (Zucker-Weinsäure-Salzlösung) zum größten Teil an den Bakterienzellen haftete. Nicht nur verlor es sehr an Wirkung, wenn es durch Kohle oder Tonzellen hindurchgegangen war, sondern auch, wenn man die Bakterien daraus durch Absetzen (nach Gefrieren oder Auftauen der Lösung) entfernte, während der Bodensatz hochgiftig war. Das macht den Eindruck, als ob *B e r g m a n n*, es hier wie z. T. auch *P a n u m*, mit den später zu besprechenden (ziemlich hitzebeständigen) Bestandteilen der Bakterienleiber zu tun hatte. Wir werden später sehen, daß unsere eigenen Untersuchungen das vollständig bestätigt haben. Mit den Leibern oder den Auszügen aus Ruhr-, Typhus-, Cholera-, Prodigiosusbazillen u. a. m. kann man das echte Bild der putriden Intoxikation hervorrufen (§ 280). Es bleibt also noch fraglich, ob das Sepsin ein Stoff ist, der ursprüngliche Bedeutung hat oder nur ein wirksamer Abkömmling der Bakterienproteine ist.

Ein anderes alkaloidartiges, in seiner Wirkung aber mehr dem *A t r o p i n* ähnliches Gift stellten *Z ü l z e r* und *S o n n e n s c h e i n*¹⁾ aus faulendem Fleisch und der Mazerationsflüssigkeit von Leichenteilen dar. Bald folgten weitere Entdeckungen auf diesem Gebiete. Namentlich *S e l m i*²⁾ war es, der die Lehre von den Fäulnis- und Kadaveralkaloiden oder, wie er sie nannte, von den *P t o m a i n e n*

1) Berl. klin. Woch. 1869. 12.

2) Sulle ptomaine. Bologna 1875; vgl. Ber. chem. Gesellsch. 1873—80.

durch zahlreiche neue Funde förderte. Nencki¹⁾ ermittelte dann zum erstenmal die chemische Zusammensetzung und den Bau eines solchen Ptomains (s. u. Kollidin). Ihm folgten Gautier und Etard²⁾ mit der Darstellung des Parvolins und Hydrokollidins, Guareschi und Morro³⁾ mit der des Coridins u. a. m. Aber erst Brieger⁴⁾ gelang es, durch gründliche Untersuchung von Fäulnisgemischen und Reinkulturen aller möglichen Bakterien nachzuweisen, daß solche Ptomaine in großer Zahl gebildet werden, und daß sich auch starke Gifte, oder wie er sie nannte, „Toxine“ darunter befinden. Allerdings erfüllte sich die ursprünglich gehegte Hoffnung, daß mit diesen Toxinen nun die echten Bakteriengifte gefunden wären, in keiner Weise. Nur die Giftigkeit faulender Stoffe scheint häufig durch Ptomaine mitbedingt zu sein, bei Vergiftungen durch Nahrungsmittel wird man mindestens also an sie zu denken haben, aber auch, wie wir schon bemerkt, nicht einmal in erster Linie. Brieger selbst wies später nach, daß die eigentlichen Bakteriengifte einen verwickelteren Bau haben, der mehr dem der Eiweißkörper ähnelt. Dazu gehören auch die stärksten Nahrungsmittelgifte, die wir kennen, die des Bac. botulinus (§ 282) und enteritidis (§ 287), das „Wurst-“ und „Fleischgift“.

Die Darstellung der Ptomaine erfolgt am besten nicht nach dem älteren Stas-Dragendorffschen Verfahren für die Pflanzenalkaloide, sondern nach Brieger (Ptomaine III. 18) folgendermaßen: Die zu verarbeitenden Massen werden fein zerkleinert mit salzsäurehaltigem Wasser einige Minuten lang ausgekocht. Man filtriert dann das Unlösliche ab, dämpft zur Sirupdicke ein, nimmt mehrmals mit 96prozentigem Alkohol auf und versetzt das Filtrat mit warmer alkoholischer Bleiazetatlösung. Das Filtrat davon wird wieder eingedampft und mit Alkohol erschöpft. Nach Verjagen des Alkohols löst man in Wasser, entfernt das Blei durch Schwefelwasserstoff und engt nach Zusatz von etwas Salzsäure zum Sirup ein. Dann wird wieder mit Alkohol ausgezogen, und das Filtrat mit alkoholischer Quecksilber-Sublimatlösung gefällt. Der Quecksilberniederschlag wird mit Wasser ausgekocht, wodurch schon eine Anzahl von Ptomainen als Quecksilberdoppelsalze in Lösung übergeführt werden. Das Quecksilberfiltrat befreit man durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, dampft nach fast vollständiger Neutralisierung ein, erschöpft wiederholt mit Alkohol, verdampft den Alkohol, löst in Wasser, bindet den Rest

1) Über Zersetzung der Gelatine und des Eiweißes. Bern 1876.

2) Compt. rend. ac sc. 94.

3) Archives italiennes de biolog. 1883.

4) Untersuchungen über Ptomaine I—III (1885—1886); Berl. klin. Woch. 1886. 281; 1887. 311 und 817; Deutsch. med. Woch. 1887. 22; Zusammenstellung in Virchows Archiv 1889; vgl. auch Husemann „Ptomaine“ in Eulenburgs Realenzyklopädie 1898.

der Salzsäure durch Soda, säuert mit Salpetersäure an und versetzt mit Phosphormolybdänsäure. Die abfiltrierte Phosphormolybdänsäuredoppelverbindung wird durch kurzes Erhitzen mit neutralem Bleiazetat zerlegt, das Blei durch H_2S entfernt, zum Sirup eingedampft. Daraus stellt man mit Goldchlorid, Platinchlorid oder Pikrinsäure die Doppelsalze der Ptomaine dar. Selten sind auch in dem ersten Bleiniederschlag und in den Phosphormolybdänsäurefiltraten Spuren von Ptomain zu finden. Die verschiedene Löslichkeit der Doppelsalze ermöglicht ihre Trennung. Ihre Charakterisierung erfolgt weiter durch Bestimmung der Kristallformen, der Schmelzpunkte und der chemischen Zusammensetzung. Die salzsauren Salze der Basen gewinnt man aus den Doppelsalzen dadurch, daß man die Metalle (Quecksilber, Gold, Platin) durch H_2S beseitigt, aus den Pikraten dadurch, daß man nach Ansäuern mit Salzsäure durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther die Pikrinsäure wegschafft. In manchen Fällen führen erst weitere Modifikationen der Methode zum Ziel. Einige Ptomaine vertragen das Erhitzen schlecht, das Einengen ihrer Lösungen muß deshalb bei niedriger Temperatur erfolgen; Faust hat dafür einen Apparat angegeben (s. u. Sepsin). Viele Einzelheiten s. bei Brieger.

Wir geben zunächst eine Aufzählung der bisher bekannt gewordenen Ptomaine, und zwar behandeln wir nacheinander die Amine, Diamine, Triamine, Ammoniumbasen, dann die Basen unbekannten Baues. Bezüglich ihrer Bildungsweise können wir zum Teil auf § 170 verweisen; in den meisten Fällen ist sie aber bisher unbekannt.

Zu den Aminen gehören:

Methylamin CH_3NH_2 , entdeckt von T o l l e n s in der Härlingslake, auch später oft in Fäulnisgemischen und Reinkulturen gefunden. Das flüchtige Gift des *Bac. pyocyaneus* enthält nach Ch a r r i n ¹⁾ Methylamin. Vielleicht entsteht es durch Abspaltung von Kohlensäure aus Aminoessigsäure (Glykokoll), ebenso wie das Äthylamin, Phenyläthylamin, Oxyphenyläthylamin, Putreszin und Kadaverin aus anderen Aminosäuren (§ 170).

Dimethylamin $(CH_3)_2NH$ B r i e g e r 1885, B o c k l i s c h 1886, E h r e n b e r g 1887 (faule Hefe, Leim, Wurst).

Trimethylamin $(CH_3)_3N$, längst bekannt aus der Härlingslake, später vielfach in Fäulnisgemischen und Reinkulturen (bei Streptokokken, Prodigiosusbazillen) gefunden.

Äthylamin $(C_2H_5)NH_2$, **Diäthylamin** $(C_2H_5)_2NH$, **Triäthylamin** $(C_2H_5)_3N$ — B r i e g e r, B o c k l i s c h, E h r e n b e r g — aus faulen Fischen und Wurst; vielleicht entsteht das erste durch Kohlensäureabspaltung aus dem Alanin (§ 170).

1) Compt. rend. ac. sc. 138. 433, 1904.

Propylamin (C_3H_7) NH_2 — Brieger 1887 — aus faulem Leim.

Tetanotoxin $C_5H_{11}N$ — Brieger 1886 — aus unreinen Kulturen des Tetanusbazillus.

Hexylamin (C_6H_{13}) NH_2 — Hesse 1857 — aus fauler Hefe.

Kollidin oder Isophenyläthylamin (?) $C_6H_5 \cdot C_2H_4 \cdot NH_2$ — Nencki 1876 — nach Spiro wahrscheinlich aus dem Phenylalanin durch Kohlensäureabspaltung entstanden — aus faulem Leim und Ochsenpankreas.

Oxyphenyläthylamin, in reifendem Käse gefunden — wohl ebenso aus Tyrosin entstanden.

Hydrokollidin $C_8H_{13}N$ (?) — Gautier und Etard 1881 — aus faulen Fischen und Makrelen.

Parvolin (?) $C_9H_{13}N$ — Gautier und Etard — aus faulem Fleisch.

Koridin $C_{10}H_{15}N$ — Guareschi und Morro 1883, de Coninck 1887 — aus faulem Fibrin und Seepolypen.

Hydrokoridin $C_{10}H_{17}N$ — Griffith¹⁾ — aus Reinkultur des Bact. alii.

Die letzten Körper gehören ihrer Zusammensetzung nach vielleicht der Pyridingruppe an, von der sich auch Pflanzenalkaloide (Koniin, Nikotin, Pilokarpin) ableiten.

Diamine sind:

Äthylendiamin (?) $C_2H_8N_2$ — Brieger 1885 — aus faulen Dorschen.

Unbenannt ist ein giftiger Körper $C_3H_8N_2$ (?), den Brieger 1887 in Cholerakulturen fand.

Tetramethylen-diamin oder Putreszin $NH_2 \cdot C_4H_8 \cdot NH_2$ — Brieger 1885 — vielfach in faulenden Körpern und auch in Cholerakulturen gefunden, nach Ellinger wahrscheinlich aus dem Ornithin (Arginin) durch Kohlensäureabspaltung entstanden (§ 170), wirkt nach Scheurlen nur örtlich reizend.

Pentamethylen-diamin oder Kadaverin $NH_2 \cdot C_5H_{10} \cdot NH_2$ — Brieger 1885, Bocklisch 1887 — aus Faulflüssigkeiten, Cholera- und Finkler-Prior-Kulturen isoliert, nach Ellinger wahrscheinlich durch CO_2 -Abspaltung aus dem Lysin (Diaminokapronsäure § 170) entstanden. Putreszin und Kadaverin wurden auch im Kot, Harn und Auswurf der Menschen gefunden. Kada-

1) Compt. rend. ac. sc. 110, 1890.

verin wirkt örtlich kräftiger reizend wie das Putreszin und wurde daher früher mit der Eiterung in Verbindung gebracht (vgl. aber § 280).

Ungiftig sind die isomeren Stoffe:

Neuridin und **Saprin** $C_5H_{14}N_2$ — **Brieger** 1883 und 1885, **Ehrenberg** 1887 — aus faulem Gehirn, Eiweiß, Wurst, menschlichen Leichen. Ungiftig ist auch das

Spermin $C_5H_{13}N_2$. Seine phosphorsauren Kristalle sind schon von **Charcot** und **Robin** 1853 in leukämischer Milz, von **Böttcher** im Sperma, von **Zenker** und **Leyder** 1872 im Auswurf bei Asthma gefunden. Nach **Scheurlens** (1878) Analyse hat es die Formel C_2H_5N , nach **Pohl**¹⁾ die obige **Kurz**²⁾ isolierte es 1888 aus Cholerakulturen. Wenn man nach dem charakteristischen Spermageruch urteilte, würde es noch in manchen anderen Bakterienkulturen, vor allem vom Ruhrbazillus, gebildet. Von **Pohl** wurde es zu Heilzwecken empfohlen (vgl. Infektions- und Immunitätslehre).

Hexamethylen-diamin (?) $C_6H_{16}N_2$ — **Garcia**³⁾ — aus faulem Pferdefleisch, ungiftig.

Vielleicht gehört hierher als Dioxykadaverin das von **Faust**⁴⁾ dargestellte

Sepsin $C_5H_{14}N_2O_2$. Es scheint mit dem Sepsin von **Bergmann** und **Schmiedeberg** (s. o. S. 810), das andere Forscher vergebens wieder zu erhalten suchten, zusammenzufallen. Über die schwierige Darstellungsmethode ist die Eigenarbeit nachzusehen. Aus 5 kg Hefe wurde durchschnittlich nur 0,03 g schwefelsaures Sepsin gewonnen. 0,02 g töten einen Hund von 4 kg von der Blutbahn aus in 4 Stunden mit Erbrechen und blutigen Durchfällen, 20 ccm des ursprünglichen Hefeaufgusses haben filtriert dieselben Folgen. Es geht also der allergrößte Teil des wirksamen Stoffes verloren. Das Gift ist sehr empfindlich gegen Hitze und verliert auch im luftleeren Raum trocken aufbewahrt binnen einigen Monaten seine Wirkung. Die Hunde lassen sich ziemlich leicht an das Gift gewöhnen. Schon früher hatte **E. Levy**⁵⁾ aus Reinkulturen des *Bac. proteus vulgaris* durch Fällung mit Alkohol oder Chlorkalzium eine eiweißartige Substanz gewonnen,

1) Ber. chem. Gesellsch. 1891. 359.

2) Monatsschr. f. Chem. 1888.

3) Zeitschr. physiol. Chem. 17.

4) Arch. exper. Path. 51, 1904.

5) Ebenda 34, 1894.

die das „Sepsin“ einschließen sollte. Wahrscheinlich handelt es sich aber hier gar nicht um die Wirkung eines Ptomains, sondern eines Eigengiftes des Proteus, das den Bakterienproteinen bzw. Endotoxinen zuzurechnen ist (§ 280).

Der Guanidingruppe gehört an:

Methylguanidin $\text{NH} \cdot \text{NH}(\text{CH}_3) \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{C}$ — Brieger 1886, Bocklisch 1887. Hoffa¹⁾ — aus gefaultem Pferdefleisch, Kulturen des Spir. Finkler-Prior und Organen bei Kaninchen-septikämie. Vielleicht entsteht es aus dem Arginin (S. 522).

Aus der Cholingruppe (Ammoniumbasen) sind zu nennen:

Cholin oder Trimethyloxäthylammoniumhydroxyd $(\text{CH}_3)_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \cdot \text{N} \cdot \text{OH}$, schwach giftig, entsteht bei der Fäulnis des Lezithins — Brieger 1885, Ehrenberg 1887 (vgl. S. 588). Aus dem Cholin bildet sich durch Bakterien (ebenda) unter Wasserabspaltung das 20mal giftigere

Neurin oder Trimethylvinylammoniumhydroxyd $(\text{CH}_3)_3 \cdot \text{C}_2\text{H}_3 \cdot \text{N} \cdot \text{OH}$. Brieger fand es 1883 in faulem Fleisch, Ehrenberg 1887 in giftiger Leberwurst. Es ist für Katzen schon tödlich in einer Menge von 5 mg auf das kg. Durch Neurineinspritzungen wollten Foà und Bonome (vgl. Immunitätslehre) Kaninchen gegen Proteuskulturen schützen. Wahrscheinlich liegt hier aber keine echte Immunität vor.

Ungiftig ist das

Oxyneurin oder **Betain** (Trimethylglykokoll) $\text{C}_5\text{H}_{13}\text{NO}_3$, das Brieger aus giftigen Miesmuscheln dargestellt hat (vgl. auch Emmerling S. 510 u. 526).

Muskarin $\text{C}_5\text{H}_{15}\text{NO}_3$, einen dem Fliegenpilzgift völlig entsprechenden Körper, fand Brieger 1885 in faulen Dorschen. Auch in verdorbenen Würsten scheint es vorzukommen (v. Sobbe²⁾). Es kann als Oxydationsprodukt des Cholins aufgefaßt werden.

Ihrem Bau nach unbekannt sind:

Mydatotoxin $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ und die unbenannte Base $\text{C}_7\text{H}_{17}\text{NO}_2$, wurden von Brieger 1886 aus faulem Fleisch isoliert, sie sind weniger giftig als das Muskarin.

Mytilotoxin $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_2$ fand Brieger 1885³⁾ in giftigen Miesmuscheln, die zwar frisch, aber in schmutzigem Wasser gehalten waren. 5 mg töten ein Kaninchen unter Erscheinungen der Kurare-

1) Arch. f. Chir. 39. 273, 1889.

2) Berl. klin. Woch. 1889. 7.

3) Ptomaine III 65 und Deutsch. med. Woch. 1885. 53.

vergiftung. Der Genuß der Miesmuscheln erzeugte beim Menschen eine Vergiftung, die 4 von 38 Personen in wenigen Stunden tötete¹⁾. Einsetzen der Muscheln in frisches Wasser brachte das Gift allmählich zum Schwinden, ebenso Kochen mit Soda. Ob der von *L u s t i g*²⁾ aus der Leber des *Mytilus edulis* gezüchtete Bazillus mit der Giftbildung etwas zu tun hat, ist mehr als zweifelhaft; daß ein Mikroorganismus irgendwie beteiligt ist, aber wahrscheinlich.

G a d i n i n $C_7H_{17}NO_2$ — *B r i e g e r* 1885 — aus faulen Dorschen und Leim, nicht identisch mit

T y p h o t o x i n $C_7H_{17}NO_2$ — *B r i e g e r* 1885 — aus Kulturen des Typhusbazillus auf Fleischbrei; tötet Meerschweinchen mit Diarrhœe, Speichelfluß, Pupillenerweiterung usw. Die Giftausbeute war übrigens sehr unbeständig und manchmal gleich Null. Über die eigentlichen Typhusgifte vgl. § 286.

T e t a n i n $C_{14}N_{80}N_2O_4$ — von *B r i e g e r* 1886 neben dem Tetanotoxin (s. o.) und der ungiftigen Base $C_6H_{13}NO_2$ aus unreinen Tetanuskulturen und dem abgesetzten Gliede eines Tetanikers isoliert. *K i t a s a t o* und *W e y l*³⁾ fanden das Tetanin auch in Reinkulturen des Tetanusbazillus wieder (s. u. Spasмотoxin). Ihrer Zusammensetzung nach unbekannt, aber kristallinische Körper, die Alkaloidreaktionen geben, sind:

S p a s m o t o x i n und eine andere unbenannte giftige Base, von *B r i e g e r* 1887 aus unreinen Tetanuskulturen dargestellt. Diese Giftstoffe erzeugen zwar auch Krämpfe, doch können sie, abgesehen von ihrem Ursprung aus unreinen Kolonien, schon deswegen nicht als die richtigen Gifte des Tetanusbazillus angesehen werden, weil sie sofort, d. h. ohne Wartezeit wirken.

M y d a l e i n — *B r i e g e r* 1885 — aus menschlichen Leichen.

T y r o t o x i k o n — *V a u g h a n*⁴⁾ — in giftigen Nahrungsmitteln (namentlich Käse, Vanilleeis, Eiscrème, Milch, Austern, Miesmuscheln) gefunden, wurde auch durch Buttersäurebazillen künstlich aus Milch gewonnen. Für Katzen ungiftig. Die Reaktionen des durch Behandeln des alkalischen wässerigen Auszugs mit Äther dargestellten Körpers stimmen mit denen des Diazo-

1) Vgl. auch *V i r c h o w*, Berl. klin. Woch. 1885, 48; *S a l k o w s k y*, Virchows Archiv 1902 und *M. W o l f f*, ebenda 103, 1885.

2) Archivio delle scienze mediche 1888.

3) Zeitschr. f. Hyg. 8. 405.

4) Zeitschr. physiol. Chem. 10. 1886 und Arch. f. Hyg. 7, 1887.

benzols (Nitrat = $C_6N_5 \cdot N_2 \cdot ONO_2$) überein, doch weichen nach K o b e r t ¹⁾ die Erscheinungen, die im lebenden Organismus dadurch hervorgerufen werden, von den bei Käsevergiftung (Erbrechen, Durchfall, Trockenheit im Halse) beobachteten ab. Bei anderen Käsevergiftungen sind auch noch Schwindel, Krämpfe, Blutbrechen, Pupillenerweiterung und Doppelsehen beobachtet worden. Es handelt sich also nicht immer um ein und dasselbe Gift und wahrscheinlich meist um echte Infektionsgifte, die dem Wurst- und Fleischgifte entsprechen (§ 282 u. 287).

Hier anzuschließen wäre vielleicht das Solanin ($C_{42}H_{75}NO_{15}$?), das giftige glykosidische Alkaloid, das nach R. Weil ²⁾ von einigen die Kartoffelschale bewohnenden Bazillen (*Bac. solaniferum colorabile* und *non colorabile*) aus der Kartoffelsubstanz gebildet wird. Aus 6 Liter Kartoffelkultur (kalter wässriger Auszug der geschälten rohen Kartoffeln) wurden 50—70 mg Solanin erhalten. Ob Solanin ein Bakterienprodukt ist, steht allerdings noch dahin (vgl. Wintgen und Morgenstern S. 481). Schmiedeberg und Meyer ³⁾, Pfuhl ⁴⁾ u. a. beobachteten Solaninvergiftungsepidemien unter dem Militär nach dem Genuß keimender oder nicht ausgereifter Kartoffeln.

Peptotoxin wurde von Brieger ⁵⁾ gelegentlich bei der Verdauung des Fibrins durch Pepsin erhalten und ist manchmal auch in käuflichen „Peptonen“ nachweisbar, deren Giftigkeit es verursacht, verdankt wohl bakteriellen Verunreinigungen sein Dasein. Auch aus faulenden Eiweißkörpern hat Brieger es darstellen können, nicht aus frischen oder unverdauten. Es tötet Frösche und Kaninchen mit Lähmungserscheinungen.

Susotoxin stellte Novy ⁶⁾ aus Schweineseuchekulturen, ein nur schwach giftiges „Sucholotoxin“ v. Schweinitz ⁷⁾ aus Schweinepestkulturen dar.

Ein giftiges Milzbrandptomain fand Hoffa ⁸⁾ in Fleischbreikulturen des *Bac. anthracis* mittelst des alten Stas-Otto-

1) Intoxikationen 721, 1893.

2) Arch. f. Hyg. 38, 1900.

3) Arch. f. exper. Path. 36, 1895.

4) Deutsch. med. Woch. 1899. 46.

5) Ptomaine I. 14; vgl. auch Salkowsky, Virchows Arch. 124 und die Erörterung zwischen Brieger und Salkowsky, D. med. Woch. 1891. 26—31.

6) Ref. Zentr. Bakt. 9. 25.

7) Ebenda 9. 24.

8) Natur des Milzbrandgifts. Wiesbaden 1886 und Arch. f. Chir. 39, 1889.

schen Verfahrens. Das B r i e g e r s c h e Verfahren versagte. Obwohl Kontrollversuche zu zeigen scheinen, daß das Gift ein eigentümliches Erzeugnis der Milzbrandbazillen ist, so fehlt doch noch viel an dem Beweise, daß der Milzbrand gerade durch dieses Gift wirkt. Die Vergiftung mit dem Ptomain verlief bei Meerschweinchen und Kaninchen nach Einspritzung von 0,01—0,02 g im Laufe einer halben Stunde unter Dyspnoe und Sopor und manchmal mit blutigen Stühlen zum Tode. Später hat H o f f a auch aus Milzbrandkadavern ein giftiges Anthrazin dargestellt. Martin¹⁾ fand neben einer ähnlich wirkenden „Albumose“ in den Milzbrandbazillen auf Alkalialbuminat ein Alkaloid, das erst in den großen Gaben von 0,1—0,5 g Mäuse mit Ödem an der Impfstelle tötete. Vielleicht ist die Albumose nur eine Vorstufe des Alkaloids, da sie sich hauptsächlich in jungen Kulturen findet. Auch aus dem Tierkörper glückte die Isolierung derselben Stoffe. Wenig wirksam waren auch die basischen Extrakte, die H e i m und G e y g e r²⁾ aus Milzbrandkulturen in Hühnereiern erhielten. Gegenüber der von C o n r a d i³⁾ unternommenen Nachprüfung büßen alle diese Ergebnisse völlig an Beweiskraft ein; es gelang diesem Forscher nicht, mit keimfrei filtrierten Exsudaten oder Organauszügen von Milzbrandtieren irgendwelche Krankheitserscheinungen auszulösen (vgl. § 292).

Das P h l o g o s i n , das L e b e r⁴⁾ aus Kulturen des *Staphylococcus aureus* isolierte, soll stickstofffrei sei, würde danach also nicht zu den Ptomainen zu rechnen sein. Es bewirkt Eiterung und Nekrose wie Kadaverin (s. o.) und die Leibesgifte der Bakterien (§ 280).

Ptomaine sind von vielen Forschern auch in Ch o l e r a k u l t u r e n gesucht und gefunden worden, doch hat B r i e g e r⁵⁾ außer den gewöhnlichen Fäulnisptomainen Putreszin, Methylguanidin, Cholin und namentlich Kadaverin nur Spuren von zwei anderen gefunden, von denen das eine Krämpfe und Muskelzittern, das andere lähmungsartige Zustände, teilweise mit blutigem Stuhlgang hervorrief. Scholl⁶⁾ konnte in seinen Eikulturen des Cholerabazillus überhaupt keine Ptomaine nachweisen. Neuerdings berichtet V e r d e r e a u⁷⁾ über ein giftiges „Virgulin“ aus Cholerabazillenextrakten.

Von den drei „neuen“ aus Fäulnisgemischen dargestellten Basen

1) Baumgartens Jahresber. 1890, 150; vgl. auch C o n r a d i unter 3.

2) H e i m s Lehrb. d. bakt. Unt. u. Diagnost. 1894.

3) Zeitschr. f. Hyg. 31, 1899.

4) Entstehung der Entzündung 154, 1891.

5) Berl. klin. Woch. 1887. 44.

6) S c h o l l , Arch. f. Hyg. 15, 1892 mit Literatur.

7) Soc. biol. 9. 5, 1908.

Marzidin, Putrin und Putridin hat A c k e r m a n n ¹⁾ das letzte zurückziehen müssen, weil es mit der δ -Aminovaleriansäure übereinstimmte. Wie diese sich übrigens bildet, bleibt dunkel. Jedenfalls entsteht sie nicht, wie man annehmen könnte, aus dem Arginin.

Aus dem Harn von kranken Menschen sind gelegentlich giftige Ptomaine isoliert worden, so von Griffith und Lodell ²⁾ bei Influenza die Base $C_6H_7NO_4$ und andere bei Pneumonie, Diphtherie, Masern, Scharlach, Keuchhusten und Röteln. Aus frischen Typhusleichen stellte Manns ³⁾ eine neues Ptomain dar, aus Tieren, die an Kaninchenseptikämie gestorben waren, Hoffa (S. 820) das Methylguanidin (s. o.). Wenn auch Stadthagen ⁴⁾, von Udranszky und Baumann ⁵⁾ Ptomaine in normalem Harn und normalen Fäzes nicht oder nur ausnahmsweise (Kadaverin und Putreszin bei Zystinurie) nachweisen konnten, so liegen doch von Jones und Dupré (s. o.) und von Gautier ⁶⁾, und Bouchard ⁷⁾ entgegengesetzte Beobachtungen vor. Man wird also mit den Schlüssen aus solchen Befunden vorsichtig sein müssen. Es liegt nicht nur die Möglichkeit vor, daß aus dem durch Bakterien zersetzten Darminhalt basische Körper resorbiert werden, sondern nach Gautier produziert vielleicht der tierische Organismus selbst, wie der pflanzliche, solche „Leukomaine“.

Man kann zusammenfassend sagen, daß aus der großen Zahl der hier aufgeführten basischen Stoffe, die wohl alle bei der Zersetzung der Eiweißkörper als Nebenprodukte gebildet werden, nur wenige als wirksame Gifte in Betracht kommen, so das Mytilotoxin, das Tyrotoxikon und vielleicht das Neurin und Sepsin. Die übrigen haben als Stoffwechselprodukte wohl nur ein chemisch-physiologisches Interesse.

§ 260. Giftige Fette. Den chemisch gut bekannten „Stoffwechselgiften“ könnten wir hier noch eine Reihe von Körpern anschließen, die sich von den eigentlichen Giften der Mikroorganismen dadurch unterscheiden, daß sie löslich sind in Fettextraktionsmitteln wie Äther, Alkohol, Chloroform. Dahin gehören die von Auclair ⁸⁾ aus Diphtherie-, Tuberkel- und anderen Bakterien, von Ceni und Besta aus Schimmelpilzen (s. u. § 307) gewonnenen Gifte. Die ersteren sind in Wasser unlöslich, die letzteren löslich. Da wir aber

1) Zeitschr. physiol. Chem. 54, 1907 und 56, 1908.

2) Compt. rend. ac. sc. 113, 114 und 117.

3) Baumgartens Jahresb. 1888. 451.

4) Zeitschr. f. klin. Med. 15.

5) Zeitschr. physiol. Chem. 13.

6) a. a. O.

7) Les autointoxications 1887; vgl. Albu, Deutsch. med. Woch. 1894. 1.

8) Arch. méd. expér. 1903. 725 s. u. § 261 u. 304.

nicht wissen, ob es sich hier wirklich um *F e t t e* handelt oder um giftige Beimischungen von solchen¹⁾, und diese Stoffe den Zellen sehr fest anzuhaften pflegen, so werden wir sie bei den Eigengiften behandeln. Eine Ausnahme soll zunächst machen ein krystallinisches Gift, das *d e S c h w e i n i t z* und *D o r s e t*²⁾ aus Kulturen der Tuberkelbazillen auf Asparaginlösung gewonnen haben. Seine Zusammensetzung entspricht der Formel der *T e r a k o n s ä u r e* $C_7H_{10}O_4$, einer zweibasischen ungesättigten Fettsäure, die in Wasser, Alkohol und Äther gleich gut löslich ist. Es erzeugt, Meerschweinchen unter die Haut eingespritzt, Temperaturerniedrigung und seröse Exsudate, in der Leber Nekrosen. Bei tuberkulösen Tieren soll es in kleinsten Gaben (2 mg) heilkräftig wirken, d. h. das Leben einige Wochen verlängern. Auch im Tuberkulin ist das Gift vorhanden, aber es ist schwer daraus darzustellen, weil es sich mit den stickstoffhaltigen Bestandteilen verbindet. Vielleicht ist es nur ein Zersetzungsprodukt des ursprünglichen Gifts. Ferner ist hier noch zu erwähnen das *N a s t i n*, das *D e y c k e* und *R e s c h a d* aus einem säurefesten Strahlenpilz und später auch aus Tuberkelbazillen (Tuberkulo-Nastin) gewonnen haben (S. 77). Es soll ein neutrales Fett vom Schmelzpunkt 48—51° sein und neben reizenden hervorragend heilkräftige Eigenschaften besitzen (vgl. Immunitätslehre).

Die Lipoide des *Pyocyaneus* und anderer Bakterien, die nach *R u ß* und *R a u b i t s c h e k* die bakterizide Wirkung der Bakterienextrakte erklären, haben wir schon bei der Pyozyanase (S. 16) erwähnt. Bei den Hämolysinen kommen wir auf sie zurück (§ 312).

§ 261. Geschichte und Darstellung des Diphtheriegiftes. Wir beginnen die Darstellung der Eigengifte der Bakterien mit dem des Diphtheriebazillus, nicht nur, weil es das am besten bekannte, sondern auch das zuerst entdeckte ist, und an seinem Beispiele sich die Eigenschaften dieser Gruppe von Körpern am schönsten darlegen lassen.

Im § 259 sahen wir, daß in der ersten Entwicklungsperiode der Bakteriologie die Neigung vorherrschte, die giftigen Wirkungen der Mikroorganismen auf die Bildung von alkaloidartigen Stoffen, von Ptomainen zurückzuführen. Indessen trotzdem die Ausbeute daran rein zahlenmäßig betrachtet, wirklich nicht gering war, wollte es doch bei weitem nicht in allen Fällen gelingen, in den Kulturen von pathogenen Bakterien, wo man sie hätte voraussetzen können, derartige Körper zu entdecken. Auch entsprach die Wirkung der aus Rein-

1) Man muß beachten, daß in die Lösungsmittel zunächst alle möglichen Stoffe hineingehen, die in reinem Zustande in ihnen unlöslich sind.

2) Zentr. Bakt. 22. 209. 1897.

kulturen dargestellten Ptomaine häufig nicht den Krankheitserscheinungen, die durch die lebenden Bakterien bedingt waren. Es lag daher nahe, nach anderen giftigen Stoffen zu suchen. Bezeichnend ist der erste Versuch, der von Löffler¹⁾ 1887 unternommen, aber erst 1890 veröffentlicht wurde. Die von diesem Forscher entdeckten Diphtheriebazillen töten Tiere, ohne sich doch in irgend erheblicher Weise in ihnen zu vermehren oder zu verbreiten. Sehr empfänglich sind Meerschweinchen, weniger Kaninchen, Hunde und Tauben, fast gar nicht Mäuse und Ratten. Die Impfstelle unter der Haut von Meerschweinchen zeigt, wenn das Tier in einigen Tagen stirbt, ein Ödem, das häufig mit Blutungen durchsetzt ist, ferner eine Ansammlung klarer Flüssigkeit im Brust-, selten im Bauchraum, fleckige Verdichtungen in der Lunge und eine starke Anschoppung der Nebennieren. Sterben die Tiere später, so findet man an der Impfstelle ein speckiges Exsudat, die Haut darüber wird nekrotisch und verschwärt; die inneren Organe zeigen, abgesehen von starker Abmagerung, meist nur Verfettung der Leber. Da die Diphtheriebazillen gewöhnlich nur an den Impfstellen nachgewiesen sind und auch da oft nur in spärlichen Mengen, kann man sich ihre Wirkung nur erklären, wenn man annimmt, daß sie ein starkes Gift bilden.

Dennoch schlug der Versuch Löfflers, aus ihren Kulturen giftige Ptomaine zu gewinnen, fehl: ein Kolben mit einer dreitägigen Kultur der Bazillen in Traubenzuckerbouillon wurde auf dem Wasserbad bis zu 100 ccm eingedampft, ein zweiter wiederholt mit Äther ausgeschüttelt. Sowohl der Ätherauszug als der Bouillonrückstand erwiesen sich als ungiftig. Löffler schlug, in der Vermutung, daß es sich vielleicht um ein giftiges Enzym handeln könne, das auf die angegebene Weise nicht zu erhalten sei, einen anderen Weg ein. Er züchtete die Diphtheriebazillen auf Fleischbrei, zog diesen nach 4—5 Tagen mit Glyzerin aus, versetzte den Extrakt mit absolutem Alkohol, löste den getrockneten Niederschlag in Wasser, fällte wieder mit Alkohol, trocknete und erhielt so einen in Wasser löslichen Körper, der unter der Haut von Meerschweinchen in der Gabe von 0,1—0,2 g derbe Knoten mit Hämorrhagien und Ödem in der Umgebung hervorrief. Es entwickelte sich ein Geschwür, die Tiere kamen aber mit dem Leben davon. Roux und Yersin²⁾ hatten sich schon vor der Veröffentlichung Löfflers mit derselben Frage beschäftigt und weit überzeugendere Ergebnisse erzielt. Um die giftigen Produkte des Diphtheriebazillus zu erhalten, entfernten sie die Bakterien, in denen sie die

1) Deutsch. med. Woch. 1890, 5/6.

2) Annal. Pasteur 1888 u. 1900.

Bouillonkulturen durch Chamberlandsche Porzellanfilter hindurchgehen ließen. Die Filtrate erwiesen sich als giftig; wenn die Kulturen jung waren, führten sie allerdings erst in sehr großen Gaben, wenn sie 4—6 Wochen alt waren, aber schon in Mengen von 0,2—2 ccm den Tod der Versuchstiere herbei, und zwar unter denselben Erscheinungen wie die lebenden Bakterien. Nachdem R o u x und Y e r s i n so das Vorhandensein des Diphtheriegiftes in künstlichen Kulturen erwiesen hatten, gingen sie daran, es näher zu kennzeichnen. Zunächst stellte es sich heraus, daß schon längere Erhitzung auf 58° das Gift stark schädigt, Kochen es fast völlig zerstört. Doch pflegen Tiere, die große Mengen des 20 Minuten auf 100° erhitzten Filtrats erhalten haben, nach einigen Wochen abzumagern und später unter Lähmungen zu sterben. Säure schädigt das Gift sehr erheblich: solange die Kultur sauer ist, sind ihre Filtrate wenig giftig, und die Giftigkeit alkalischer Filtrate wird durch Ansäuerung stark abgeschwächt, kehrt zurück, wenn man bald wieder neutralisiert, wird aber durch längere Einwirkung der Säure dauernd herabgesetzt (vgl. § 267). Aus den bei 25° eingeeengten Filtraten läßt sich das Gift durch Alkohol fällen, das niedergeschlagene Gift löst sich im Wasser und kann durch Dialyse gereinigt werden, weil es nur s c h l e c h t d i f f u n d i e r t. Das so gereinigte Gift tötete Meerschweinchen in der Gabe von 0,1 mg T r o c k e n s u b s t a n z, während von dem Filtrat 0,25 ccm dazu nötig gewesen waren. Aus dem Filtrat wird das Gift auch durch andere künstlich erzeugte umfangreiche Niederschläge zu Boden gerissen, so nach Hinzufügung von Chlorkalzium durch das dabei entstehende Kalziumphosphat. Im trockenen Zustand verträgt es Erhitzung auf 100°. Seiner Darstellung nach ähnelt das Diphtheriegift offenbar den Enzymen und wird auch von R o u x und Y e r s i n als solches bezeichnet und den übrigen Absonderungen der Bakterien an die Seite gestellt.

B r i e g e r und C. F r ä n k e l ¹⁾ bestätigten im wesentlichen diese Ergebnisse. Ihre chemischen Untersuchungen führten sie aber weiterhin zu dem Schlusse, daß das Diphtheriegift nicht ein Enzym, sondern ein „Toxalbumin“, d. h. ein giftiger Körper von der Zusammensetzung und mit allen Reaktionen der Eiweißkörper sei, und zwar den Serumalbuminen am nächsten stände. Aus dem Filtrat wurde es durch Übersättigen mit Ammonsulfat, nicht mit Magnesiumsulfat, Chlornatrium und Natriumsulfat niedergeschlagen. Am einfachsten gelang die Darstellung, wenn das Filtrat bei 30° im luftleeren Raum auf den dritten Teil eingeeengt und in die zehnfache

1) Berl. klin. Woch. 1890. 11/12.

Menge absoluten Alkohols übertragen wurde. Einige Tropfen Essigsäure beförderten die Ausfällung des Niederschlags, der durch wiederholtes Lösen in Wasser, Filtrieren und Fällen mit Alkohol und schließlich durch die Dialyse weiter gereinigt wurde. Das Toxalbumin wurde nach Brieger und Fränkel von den Bazillen abgespalten aus dem Gewebseiweiß oder aufgebaut aus den Peptonen des Nährbodens. Alle Bemühungen, nebenher noch andere Gifte (Ptomaine, flüchtige Stoffe) aufzufinden, schlugen fehl. Wassermann und Proskauer¹⁾ veränderten diese Darstellungsmethode des Toxalbumins, weil sie fanden, daß das Gift dabei mit einem ungiftigen Eiweißstoff verunreinigt ist, der sich dadurch von ihm unterscheidet, daß er nicht wie das Gift schon durch verdünnten Alkohol, sondern erst durch konzentrierten gefällt wird. Sie engten zunächst das Filtrat im luftleeren Raum ein, dialysierten den Rückstand bei niedriger Temperatur gegen destilliertes Wasser, um Peptone und Globuline zu entfernen, filtrierten und fällten nach Ansäuerung mit 60—70prozentigem Alkohol. Das trockene Gift tötete in Menge von 10 mg Kaninchen bei subkutaner Einspritzung binnen 4 Tagen. In ähnlicher Weise konnten sie das Gift gewinnen aus einem Glyzerinauszug²⁾ der Organe von Tieren, die an Diphtherie gestorben waren. Auch diese von Wassermann und Proskauer gewonnenen Gifte besaßen Zusammensetzung und Reaktion der Eiweißkörper, die Autoren fassen aber schon die Möglichkeit ins Auge, daß es sich hier nur um Beimengungen von ungiftigen Eiweißkörpern zu dem eigentlichen Gift handle, über dessen Natur man sich also nicht aussprechen könne.

Zu eigentümlichen Vorstellungen über das Diphtheriegift kam Martin³⁾ bei einem Versuche, dasselbe aus dem diphtherieinfizierten menschlichen Körper zu isolieren. Die diphtherischen Membranen wurden in absoluten Alkohol gelegt und mit einer 10prozentigen Kochsalzlösung ausgezogen. Dieser Auszug ist giftig, soll nach Martin aber wirklich wie ein Enzym aus dem Eiweiß der Menschen giftige Albumosen (Hetero-, Proto- und Deuteroalbumose) abspalten.

Die bisher besprochenen Darstellungsverfahren des Giftes geben nicht nur Stoffe von sehr zweifelhafter Reinheit, da sie die nicht spezifischen Eiweißkörper nicht ausschließen, sondern auch meist nur eine geringe Ausbeute an Gift, weil namentlich die Behandlung mit Alkoholeschädigt. Deswegen haben Brieger und

1) Deutsch. med. Woch. 1891. 17.

2) 6 Teile Glyzerin + 4 Teile Wasser.

3) Brit. med. Journ. 1892. 1. 641 ff.

Boer¹⁾ sich Mühe gegeben, auf anderen Wegen zum Ziel zu gelangen. Ein Verfahren, das sie bei der Darstellung der Antitoxine erprobt, erwies sich auch hier als zweckentsprechend. Sie gingen nämlich aus von Doppelverbindungen des Giftes mit Metallsalzen (Quecksilberchlorid, Zinksulfat und besonders Zinkchlorid). Die giftige Diphtheriekultur (in Peptonbouillon oder Blutserum) wird durch Filter von den Bakterien befreit und mit der doppelten Menge 1prozentigen Zinkchlorids versetzt. In den Niederschlag geht das Gift vollständig über, bleibt auch ungelöst, wenn es sorgfältig mit Wasser ausgewaschen wird. Die Schwierigkeit besteht nun darin, aus der Zinkverbindung das Gift rein abzuscheiden. Schwefelwasserstoff ist nicht anwendbar, da er das Gift zerstört, Natriumphosphat ebensowenig, weil es das Gift auch angreift; durch Kohlensäure wird die Verbindung mit dem Zink nicht gelöst; Säuren wirken schon in Spuren schädlich; brauchbar erwies sich erst die Anwendung schwacher Alkalien und Mittelsalze, vor allem von Ammoniakverbindungen. Der gut ausgewachsene Zinkniederschlag wird mit einer dem ursprünglichen Rauminhalt entsprechenden 3—6prozentigen Ammoniumbikarbonatlösung tüchtig durchgeschüttelt, dann mit soviel Ammoniumphosphat versetzt, bis alles in Lösung geht, und eine Trübung durch das ausfallende Zinkphosphat entsteht. Nach Absetzen filtriert man durch gehärtete Filter, wäscht gut aus und sättigt das Filtrat mit Ammoniumsulfat: der Niederschlag schließt das Diphtheriegift vollständig ein. Um mitniedergerissenes Pepton zu entfernen, löst man in Wasser und schüttelt mit feingepulvertem Natriumsulfat: das Gift wird dadurch rein ausgefällt, wenn der Nährboden nicht sehr reich an Eiweiß war. Es zeigt sich jetzt, daß das Diphtheriegift keine Eiweiß- oder Peptonreaktion gibt. Dennoch ist es ein sehr unbeständiger Körper. Säuren, selbst Kohlensäure, Alkohol, Äther, Chloroform, Azeton, oxydierende Stoffe wie Kaliumpermanganat wirken ebenso wie hohe Temperatur schädlich, nur schwache Alkalien und reduzierende Stoffe unschädlich. Eine Elementaranalyse scheint noch nicht ausgeführt worden zu sein, da die Gewinnung der nötigen Giftmengen die Verarbeitung gewaltiger Kulturmassen erfordert. Wir dürfen trotzdem als wahrscheinlich voraussetzen, daß es ein verwickelt gebauter Stoff ist. Die geringe Diffusionsfähigkeit spricht für ein hohes Molekulargewicht. Sicherheit dafür haben wir freilich ebensowenig wie bei den Enzymen (§ 240).

Haben sich die Ansichten über die Natur des Diphtheriegiftes

1) Zeitschr. f. Hyg. 21. 267, 1895 und Deutsch. med. Woch. 1896. 49.

allmählich so weit geklärt, daß man wenigstens sagen kann, was es nicht ist, daß es also im besonderen nicht zu der bekannten Klasse der Eiweißkörper und Ptomaine gehört, so ist die Entstehungsweise des Giftes noch vollständig dunkel. Wir wissen nicht, aus welchem Stoff die Diphtheriebazillen ihr Gift bilden, sondern nur, daß bei verschiedener Ernährung die Menge des gebildeten Gifts sehr erheblich schwankt. So fand *Blumenthal*¹⁾, daß auf Lösungen von Eier- und Serumalbumin, Kasein, Nuklein, echtem Pepton und Antipepton trotz vielfach gutem Wachstum keine irgendwie erhebliche Giftbildung stattfand. Nach *Zinno*²⁾ bilden sehr giftige Diphtheriebazillen kein Gift auf eiweißfreien Nährböden, Fleischextrakt, auf Eiereiweiß, gereinigten Peptonen oder Albumosen, wenig auf Serumeiweiß, ziemlich viel auf Hefenuklein, viel in Pferde- und Rindfleischbrühe, am meisten auf einem Gehirninfus. Dabei ist aber zu bemerken, daß sie auf manchen dieser Nährböden gar nicht oder sehr spärlich wachsen. Irgendwie bindende Schlüsse sind aus diesen Angaben nicht zu ziehen, schon weil sie sich teilweise widersprechen. Doch hat man durch ähnliche Versuche wenigstens die Bedingungen ermittelt, die es gestatten, ein möglichst kräftiges Diphtheriegift zu gewinnen. In erster Linie kommt es dabei auf die Wahl des richtigen Bazillenstammes an. Der eine ist giftiger wie der andere. Nicht immer entspricht einer hohen „Virulenz“, d. h. einer bedeutenden Wirksamkeit der lebenden Bazillen³⁾, ein starkes Vermögen Gift zu bilden. Doch werden beide Eigenschaften, Virulenz und Giftigkeit, durch wiederholte Überimpfung auf empfängliche Tiere (Meerschweinchen) gesteigert. Um die Wirksamkeit der Kulturen zu erhalten, dürfen sie nicht auf Glyzerinagar fortgepflanzt werden, sondern auf Blutserum oder auch in Bouillon. Die Kulturen sollen ferner die Eigenschaft besitzen, auf der Oberfläche der Bouillon Decken zu bilden, nicht sie gleichmäßig zu trüben. Häufige Übertragungen von Bouillon auf Bouillon bei reichlichem Luftzutritt dienen dazu, diese Eigentümlichkeit zu befestigen. Ebenso wichtig wie die Eigenart der Bazillen ist die Zusammensetzung des Nährbodens, auf dem das Gift gebildet werden soll. Es sind zahlreiche Vorschriften dafür angegeben worden, man kann das Ziel offenbar auf verschiedenen

1) Deutsch. med. Woch. 1897. 24.

2) Zentr. Bakt. 31. 2, 1902.

3) Um echte Virulenz, d. h. Wachstumsfähigkeit, handelt es sich hier wohl nicht, sondern wohl mehr um eine eigentümliche Beschaffenheit der lebenden Bazillenleiber, die eine Ausscheidung der Gifte bald leicht, bald schwer macht (s. u. *Aronson*, *Murillo*).

Wegen erreichen¹⁾. Viel benutzt sind eine Fleischbouillon mit 2% Pepton (Witte oder Chapoteau²⁾), ferner in Frankreich die Martinsche Bouillon³⁾, die Sproncksche Hefeabkochung⁴⁾. Der im Fleischsaft oft enthaltene Zucker hemmt die Giftbildung, wenn er in großen Mengen vorhanden ist, da die Diphtheriebazillen den Zucker unter Säurebildung zersetzen und das Gift gegen Säure sehr empfindlich ist (s. o.). Doch nur ein Übermaß von Zucker ist schädlich, ein geringes Maß nach Th. Smith⁵⁾ sogar nützlich, vielleicht deswegen, weil durch den Zuckerzusatz das Wachstum befördert und die daraus gebildete geringe Säuremenge bald neutralisiert wird. Die Erfahrung lehrt jedenfalls, daß die Kultur erst dann ihre stärkste Giftigkeit erlangt, wenn sie alkalisch geworden ist. Nicht gleichgültig ist auch die anfängliche Reaktion der Nährlösung, sie soll ziemlich stark alkalisch sein. Ferner ist für reichlichen Luftzutritt zu sorgen, am einfachsten in der Weise, daß man in niedriger Flüssigkeitsschicht züchtet. Ein kräftiges Diphtheriegift (Filtrat) soll Meerschweinchen von 250 g in einer Gabe von 0,005—0,02 ccm (unter der Haut verabreicht) binnen wenigen Tagen töten. Auffällig ist die Unregelmäßigkeit der Giftbildung: auch bei genauester Befolgung aller Vorschriften macht man gelegentlich recht sonderbare Erfahrungen⁶⁾. Es kann vorkommen, daß von mehreren Kulturenkolben, die man gleichzeitig und mit demselben Diphtheriestamm geimpft und unter anscheinend den gleichen Bedingungen gehalten hat, der eine viel Gift, der andere gar keins liefert. Als Giftlösungen benutzt man entweder die keimfreien Filtrate oder noch einfacher ganze Kul-

1) Vgl. dazu auch Madsen, Diphtherietoxin in Kraus und Levaditi, Handb. 1, 1907.

2) Nach Hida, Zeitschr. f. Hyg. 61. 273, 1908, sind es die Deuteroalbumosen im Pepton, die für die Giftbildung am wichtigsten sind.

3) Annal. Pasteur 1898. 26. Besteht aus gleichen Teilen einer Kalbfleischkochsalzbouillon und einer Peptonlösung, die man sich selbst bereitet aus 200 g fein zerhacktem Schweinemagen, 10 g Salzsäure, 1000 g Wasser (24 Stunden bei 50°, dann abziehen, kurz aufkochen, 2 Tage stehen lassen, heiß neutralisieren, Kochen, Filtrieren).

4) Annal. Pasteur 1898. 701. 1 Teil Hefe wird mit 20 Teilen Wasser 20 Minuten unter Umrühren gekocht; dann wird abgegossen, mit Kochsalz und Pepton versetzt, neutralisiert.

5) Journ. exper. med. 1899. Das Fleischwasser, das durch Ausziehen von ganz frischem gehacktem Fleisch in der Kälte bereitet worden ist, filtriert und neutralisiert man, stellt es über Nacht mit Colibazillen geimpft in den Brutschrank, um den Fleischzucker daraus zu entfernen und verarbeitet es dann in der üblichen Weise (nach nochmaliger Neutralisierung) mit Peptonzusatz zu Nährbouillon. Die Diphtheriebazillen sollen darin ein starkes Gift bilden.

6) Madsen, Zeitschr. f. Hyg. 26, 1897.

turen, die man durch tagelange Berührung und wiederholtes Schütteln mit Toluol keimfrei macht, und aus denen man die nötigen Mengen mittelst Pipetten entnehmen kann. Sie halten sich, im Dunkeln und kühl aufbewahrt, monatelang. Doch vermindert sich allmählich ihre Giftigkeit und es bilden sich dabei Abarten des Gifts (s. u. Toxoide § 262).

Etwas mehr weiß man über den Ort der Giftbildung. Die von mancher Seite vertretene Ansicht, daß das Diphtheriegift ein sogenanntes Stoffwechselprodukt sei, das außerhalb der Zellen aus dem Nährmaterial gebildet, also z. B. durch eine Art Ferment aus den Eiweißstoffen der Nahrung abgespalten würde, ist unhaltbar. Man hat sie dadurch widerlegen wollen, daß man auf die Giftigkeit von Kulturen in eiweißfreien Nährböden wie Asparaginsalzlösung¹⁾, Harn²⁾, dialysiertem Harn³⁾ hinwies. Aber abgesehen davon, daß die betreffenden Angaben nicht ohne Widerspruch geblieben sind, weil andere Autoren in solchen Nährböden überhaupt keine Entwicklung der Diphtheriebazillen beobachteten, macht Z i n n o ⁴⁾ mit Recht darauf aufmerksam, daß in jedem Falle die Entwicklung und die Giftbildung auf solchen Nährböden eine sehr geringe sei und die dazu nötigen Spuren von Eiweiß leicht durch Verunreinigungen oder aufgelöste Bakterienleiber geliefert sein könnten. Entscheidend ist dagegen die Tatsache, daß die Leiber der Diphtheriebazillen selbst giftig sind. Sehr wahrscheinlich wird das ja schon dadurch, daß man mit geringen Mengen der Bazillen, die von festen Nährböden entnommen sind, Tiere unter den bekannten Erscheinungen töten kann und dabei manchmal Mühe hat, an der Impfstelle die Bazillen wiederzufinden oder sie in einem Zustande findet, der auf Abgestorbensein deutet. Den unmittelbaren Beweis hat dann K o s s e l ⁵⁾ geliefert, indem er die Bazillenhäute aus flüssigen Kulturen sammelte, sie mit Kochsalzlösung unter Benutzung der Zentrifuge mehrfach auswusch, so daß jede Spur der anhaftenden Bouillon beseitigt war, sie dann mit Chloroform abtötete und 3 Tage lang mit 1prozentiger Natronlauge auszog. Der Extrakt erwies sich als giftig. B r i e g e r und B o e r

1) O u s c h i n s k y , Arch. méd. expér. 1893; vgl. dagegen C. F r ä n k e l , Hyg. Rundschau 1894. 769.

2) G u i n o c h e t , Compt. rend. soc. biol. 1892. 380.

3) B r i e g e r und B o e r a. a. O.

4) a. a. O. S. 43. Um welche Spuren es sich da handelt, ergibt sich aus folgender Rechnung. 600 ccm 10 tägige Diphtheriebouillon enthielten 120 000 für Meerschweinchen tödliche Giftdosen, aber nur 225 mg trockene Bakteriensubstanz, 600 ccm Ouschinskysche Kultur enthielten bestenfalls 400 Giftdosen und dementsprechend vielleicht kaum 1 mg Bakterien.

5) Zentr. Bakt. 19, 1896.

erzielten dasselbe Ergebnis, wenn sie die Bazillenleiber mit konzentriertem Ammoniumchlorid mehrere Stunden lang schüttelten oder 20 Stunden stehen ließen. In größeren Mengen und in ziemlich reinem Zustand, d. h. ohne gar zu erhebliche Beimischung von Eiweißkörpern, läßt sich Gift nach *A r o n s o n* ¹⁾ aus den Bazillen gewinnen, wenn man sie vorher mit Alkohol usw. entfettet und dann im Schüttelapparat mit 0,1% Äthylendiaminlösung oder ähnlichen Basen auszieht²⁾. Für Tiere sind die Bazillen selbst sehr giftig, wenn sie nicht entfettet sind, viel weniger im umgekehrten Falle, weil die Bakterienkörper dann offenbar für die tierischen Säfte schwer angreifbar geworden, „gehärtet“ sind³⁾. *M u r i l l o* ⁴⁾ zeigt schließlich, daß man durch *S e l b s t v e r d a u n g* d e r *B a z i l l e n* unter Toluol (§ 166) die stärksten Gifte erhält. Wenn somit sicher ist, daß die Diphtheriebazillen ihr Gift in ihrem Körper bilden, so ist es ebenso gewiß, daß sie es in beträchtlichen Mengen ausscheiden. Es hat sich aber darüber ein Streit entsponnen, ob die Bakterien das Gift während ihres Lebens, also als „Sekret“ ausscheiden, wie sie auch Enzyme absondern, oder ob das Gift erst nach dem Tode der Bazillen aus den Leibern ausgelaugt wird, also als „Endotoxin“ anzusehen ist. *G a m a l e i a* ⁵⁾ hat die letztere Auffassung damit begründet, daß in den flüssigen Kulturen der Diphtheriebazillen während der ersten Tage trotz lebhafter Vermehrung nur wenig Gift nachzuweisen sei, dasselbe aber in der Kulturflüssigkeit (bzw. den Filtraten davon) um so reichlicher auftrete, je älter die Kulturen werden, je mehr Bazillen also absterben und von der alkalisch gewordenen Flüssigkeit ausgelaugt werden können. Die Tatsache ist im allgemeinen nicht zu bestreiten. So wird der Höhepunkt der Giftbildung gewöhnlich erst nach Wochen erreicht. *M u r i l l o* fand allerdings ein erstes Maximum in der zweiten Woche, dann ein Absinken und ein zweites Maximum in der vierten Woche. Wahrscheinlich kommen hier große Schwankungen vor, die wohl mit der Wachstumsschnelligkeit und Autolysierbarkeit der Bazillen zusammenhängen. So kann nach *K o s s e l* (a. a. O.) die Giftbildung unter Umständen auch in den ersten Tagen der Kultur recht beträchtlich sein. Möglicherweise sterben in solchen Fällen die Bazillen schneller als sonst ab. Daß eine gewisse, je nach der Spezies wechselnde Zahl von

1) Arch. f. Kinderheilk. 30, 1900.

2) 0,5 mg der daraus durch Essigsäure gefällten Substanz töteten Meerschweinchen von 250 g in 2 Tagen.

3) So erzeugten z. B. 10 mg gehärtete Bazillen nur ein örtliches Infiltrat.

4) Zentr. Bakt. 35, 1903.

5) Les poisons bacteriennes. Paris 1892.

Individuen in allen Bakterienkulturen schon recht früh zum Absterben gelangt, davon kann man sich leicht überzeugen (§ 36). Auf der anderen Seite ist es freilich auch nicht auszuschließen, daß die Bazillen schon während des Lebens Gift ausscheiden, dann muß man aber mindestens zugeben, daß das erst in einer späteren Periode ihres Lebens, die man vielleicht am besten als die des Absterbens bezeichnet, geschieht. Wir werden später sehen, daß es viele Bakterien gibt, bei denen man mit noch größerem Recht als bei den Diphtheriebazillen annehmen darf, daß ihr Gift erst nach ihrem Tode aus den Leibern frei wird (s. namentlich bei den Ruhrgiften § 289). Uns scheint der Unterschied in den beiden Auffassungen nicht gerade erheblich zu sein. Auch bei den Verdauungsenzymen der Mikroorganismen (§ 240) haben wir gesehen, daß eine scharfe Grenze zwischen den „Ekto-“ und „Endoenzymen“ nicht gezogen werden kann. Immer handelt es sich um Produkte des Zellebens, der Unterschied besteht nur darin, daß diese Produkte das eine Mal fester, das andere Mal weniger fest den Zellkörpern anhaften und darum schwerer oder leichter aus ihnen ausgeschieden werden (vgl. § 272).

Neben dem bisher besprochenen „Ektotoxin“ oder eigentlichen „Toxin“, gewöhnlich als Sekret bezeichneten Gift scheint der Diphtheriebazillus noch ein anderes zu erzeugen. Es haftet dem Bakterienkörper fester an, ist viel weniger kräftig und wird durch die Siedehitze nicht zerstört. Schon bei Roux und Yersin finden wir darüber Andeutungen (s. o.). Brieger und Boer fanden weiter, daß die Bazillen, wenn ihnen das hitzempfindliche Gift durch Ammoniumchlorid entzogen ist, noch nicht für Tiere unschädlich geworden sind. 10 mg der getrockneten Bakteriensubstanz töten Meerschweinchen von 500 g allmählich unter Nekrotisierung und Eiterung an der Impfstelle. Wahrscheinlich ist damit das „Pyrotoxin“, das Centanni¹⁾ wie aus vielen anderen, so auch aus den Diphtheriebazillen durch eingreifende Behandlung erhielt, verwandt. Das von Brieger und Boer gewonnene Präparat war allerdings wohl kräftiger wirksam, weil es noch Spuren des echten Diphtheriegifts enthielt. Nach Aronson beteiligen sich übrigens auch nachträglich eingewanderte fremde Bakterien an den genannten örtlichen Erscheinungen. Ob mit diesem in den Leibern der Diphtheriebazillen steckenden Gift das

1) S. u. § 280. Nach Escherich (Ätiol. und Pathol. d. epidem. Diphth. 1894) hat schon Schweighöfer nach der Buchner-Römerschen Methode ein „Protein“ aus den Diphtheriebazillen dargestellt, das ähnliche Eigenschaften hatte, aber (wegen seiner geringen Konzentration?) keine Nekrosen hervorrief.

„Endotoxin“ *Rists*¹⁾, das er durch Behandeln der Bazillen mit Äther, Alkohol und Schwefeldämpfen gewann, und das die spät entstehenden und durch die Heilserumtherapie nicht vermeidbaren Lähmungen bei menschlicher Diphtherie — aber auch im Tierversuch — verursachen soll, etwas zu tun hat, bleibt vorläufig zweifelhaft.

Wie sich das von *Aucclair*²⁾ durch Ätherausgezogene in Wasser unlösliche Gift (vgl. § 260), das auch örtlich reizende Eigenschaften entwickelt, verhält, ist ebenfalls noch auszumachen.

*Belfanti*³⁾ will zwar nichts von einem besonderen Endotoxin wissen, das Vorhandensein von „Leibesgiften“ auch der Diphtheriebazillen ist aber wohl kaum zu bestreiten, wenn wir auch über seine Bedeutung für die Infektion und seine etwaigen Beziehungen zum Antitoxin des Immunserums noch wenig wissen. Um so besser sind wir in dieser Hinsicht unterrichtet bei dem eigentlichen Diphtheriegift, das ja neben dem Tetanusgift das erste Gift ist, dessen immunisierende Eigenschaften man durch Behring kennen gelernt hat.

Genaue Untersuchungen darüber, die wir namentlich *Ehrlich* verdanken, haben Tatsachen ergeben, die für einen recht verwickelten Bau des Giftes sprechen. Neben dem akut wirkenden Toxin im engeren Sinne enthält nämlich jede Diphtheriegiftlösung noch ein Toxon, das viel langsamer und schwächer wirkt und charakteristische Lähmungen verursacht⁴⁾; aus beiden entstehen durch allmähliche Veränderung mehr oder weniger unwirksame Toxoide (und Toxonoide?). Wir müssen, um diese Verhältnisse zu verstehen, im folgenden etwas weiter ausgreifen.

§ 262. Bau des Diphtheriegifts. Toxoide. Unsere Kenntnisse von dem Bau der immunsierenden Bakteriengifte (Impfgifte S. 792) sind wesentlich gegründet auf die Arbeiten *Ehrlichs* über das Diphtheriegift. Sie gingen aus von den älteren Feststellungen über die Beziehungen des Giftes zu seinem Antitoxin. Seit der Entdeckung der antitoxischen Immunsera durch *Behring* und *Kitasato* (1890) war bekannt, daß das Antitoxin, wenn es mit dem Gift in Berührung gebracht wird, dessen Wirkung aufzuheben vermag. *Behring* hatte dabei bald von einer Neutralisierung des Giftes, bald von einer Zerstörung durch ein Gegengift gesprochen, erklärte also die Wirkung durch unmittelbare Beziehung der beiden

1) Soc. biol. 1903 (Baumgartens Jahrb. 1903. 214).

2) Arch. méd. expér. 1903. 725.

3) Zentr. Bakt. 47, 1908.

4) *Löffler*, *Roux* und *Yersin* u. a. beobachteten schon solche Lähmungen bei Diphtherietieren und die letzteren stellten ein „Lähmungsgift“ aus den Organen und dem Harn diphtheriekranker Kinder dar.

Arten von Stoffen aufeinander, ohne die chemische Natur der Vorgänge in irgendeiner Weise festzulegen¹⁾. Demgegenüber vertraten Buchner²⁾ und Roux³⁾ die Auffassung, daß die Antitoxine mittelbar erst durch Beeinflussung der Abwehrkräfte des lebenden Körpers wirkten. Wir kommen auf die eigentümlichen Beobachtungen, auf die die letzteren Forscher ihre Ansicht stützten, später zurück. Ihre Einwände haben nicht verhindern können, daß die erstere Auffassung, und zwar in der von Ehrlich vertretenen Form, nach der das Gift durch das Antitoxin chemisch gebunden wird, immer mehr durchgedrungen ist. Vor allem trug dazu bei die namentlich bei vorheriger Vermischung des Gifts mit dem Antitoxin im Reagensglas deutlich hervortretende Tatsache, daß, wenn eine bestimmte Menge a des Gifts durch die Menge b des Antitoxins unschädlich gemacht wird, das gleiche erfolgt, sobald man ein Vielfaches von a und b , z. B. xa und xb nimmt. Diese Proportionalität zwischen Gift und Gegengift oder das „Gesetz der Multipla“ gilt allerdings beim Diphtheriegift nur dann, wenn man mindestens von der fünf- bis zehnfachen tödlichen Gabe des Giftes als Anfangsgabe ausgeht. Die Erklärung dafür liegt nach Cobbetts und Kantschaks sehr wahrscheinlicher Deutung⁴⁾ daran, daß man bei Absättigung einer kleinen Gabe (α) z. B. der einfach tödlichen mit Antitoxin (β) Gefahr läuft, zu wenig vom letzteren zu nehmen, weil ein gewisser Teil des Giftes $\frac{\alpha}{n}$ schon vom normalen Tier anstandslos vertragen wird, also nicht vom Immunserum neutralisiert zu werden braucht. Nimmt man jetzt ein Vielfaches $x\alpha$ der tödlichen Gabe und $x\beta$ des Antitoxins, so ist die Giftmenge $\frac{x\alpha}{n}$ nicht dadurch neutralisiert, der Körper kann aber nach wie vor nur $\frac{\alpha}{n}$ unschädlich machen, es bleiben also $(x-1) \cdot \frac{\alpha}{n}$ des Giftes überschüssig, das Gesetz der Multipla stimmt dann also scheinbar nicht. Ist z. B. $n = 20$, was vielleicht annähernd der Wirklichkeit entspricht, so würde der Giftüberschuß schon bei einer 21fachen Menge ($x = 21$) gleich einer tödlichen

1) Vgl. Behring, Infektion und Desinfektion, 1894.

2) Münch. med. Woch. 1893. 23/24; Berl. klin. Woch. 1894. 4, ferner Schutzimpfung usw. Handbuch der speziellen Therapie von Penzoldt-Stintzing 1894.

3) Annal. Pasteur 1894. 624 und 722 (Bericht vom Budapester Kongreß).

4) Zentr. Bakt. 24. 129, 1898.

Gabe sein. Wählt man dagegen von vornherein eine höhere Menge des Giftes als Ausgangspunkt, so spielt die Giftmenge $\frac{a}{n}$ eine viel geringere Rolle und kommt nur jenseits der üblichen Grenzen der Versuche noch in Betracht. In jedem Falle ist natürlich bei der Neutralisierung des Giftes durch das Immunserum darauf zu achten, daß die Giftwirkung vollständig aufgehoben wird, die Einspritzung also ohne die geringsten Folgen für das Versuchstier, oder wie man zu sagen pflegt, „glatt“ verläuft. Das Gesetz der Proportionalität zwischen Gift und Gegengift ist im allgemeinen auch sonst bestätigt und damit bewiesen worden, daß eine unmittelbare Reaktion zwischen beiden, die nicht der Beteiligung des lebenden Körpers bedarf und ebensowenig etwa eine fermentative Einwirkung des Antitoxins auf das Gift, sondern eine Verbindung zwischen beiden anzunehmen ist. Am beweiskräftigsten sind in dieser Beziehung die Versuche mit Rizin (Ehrlich¹⁾), Tetanolysin (Ehrlich § 312), Aalblut (Camus und Gley, Kossel²⁾), Froschblut (Friedberger und Seelig³⁾), anderen Bakteriohämolysinen (Kraus u. a. § 312 u. 313) und Leukozidin (§ 317), weil sie erlauben, die Wirkung des Giftes und Gegengiftes ganz und gar im Reagensglas zu studieren, also die Beteiligung des lebenden Körpers auszuschließen.

Die genaue Verfolgung des Bindungsvorganges zwischen Tetanolysin und seinem Antikörper hat Ehrlich⁴⁾ weiter zu dem Schluß geführt, daß sich dabei ähnliche Verhältnisse ergeben, wie sie die Chemie namentlich von der Bindung der Doppelsalze her kennt. Er fand nämlich, daß die Bindung in konzentrierten Lösungen viel schneller vor sich geht als in verdünnten, in der Wärme schneller als in der Kälte. Für das Tetanustoxin (Tetanospasmin) und andere Bakteriengifte hat man diesen Einfluß bestätigen und teilweise die Verbindung des Toxins mit dem Antitoxin durch künstliche Eingriffe (Filtration, Erhitzung, Verdauung, H_2O_2 usw.) lösen können (§ 278). Beim Diphtheriegift sind dergleichen Unterschiede weniger leicht zu erkennen, weil seine Verwandtschaft zum Antitoxin enger ist, die Bindung durchschnittlich schneller erfolgt. Doch haben manche Erfahrungen gelehrt, daß auch hier die Zeit für den vollständigen Verlauf der Reaktion von Bedeutung ist (s. u. S. 840) und daß unter Umständen das Gift auch aus der neutralen Mischung

1) Fortschr. d. Medizin 1897. 2.

2) Berl. klin. Woch. 1898.

3) Zentr. Bakt. 46, 1908.

4) Klin. Jahrb. 6. 309, 1897.

mit seinem Serum wiedergewonnen werden kann (§ 278). Bei der gewöhnlichen subkutanen Einverleibung der Toxin-Antitoxinmischungen spielt das aber keine Rolle.

Wichtiger für uns sind zunächst die verwickelten Verhältnisse, die Ehrlich¹⁾ und seine Schüler beim näheren Studium des Diphtheriegiftes festgestellt haben. Ehrlich fand, daß das Gift Veränderungen unterliegt und aus verschiedenen Bestandteilen besteht, die ungleiche Wirkung auf den lebenden Körper und ungleiche Verwandtschaft zum Antitoxin besitzen und gab dafür Erklärungen, die auch noch sonst in der Lehre von den Giften und der Immunität vielfache Anwendung gefunden haben. Den Anlaß zu seinen Untersuchungen bot die Aufgabe, für die Wirksamkeit des Diphtherieserums in der praktischen Medizin auch im Laboratorium einen brauchbaren Maßstab zu finden. Dabei ergab sich zunächst die Schwierigkeit, daß es unmöglich war, ein Diphtheriegift von unveränderlicher Wirkung zu bekommen. Die verschiedenen Konservierungsverfahren hindern nicht, daß die Giftigkeit der Diphtheriebouillon sich mit der Zeit bald schneller, bald langsamer, manchmal in fast launischer Weise abschwächt. Glücklicherweise verhält es sich umgekehrt mit dem Gegengift: das Immunserum kann im trockenen Zustand und im luftleeren Raum ohne Einbuße seiner Wirksamkeit unbeschränkt lange aufbewahrt werden, es eignet sich also hervorragend als fester Maßstab. Am besten geht man dabei von dem sog. Normalserum Behrings aus, das in einer Menge von 0,1 ccm das Zehnfache der einfach tödlichen Gabe eines ursprünglich benutzten Diphtheriegifts neutralisiert, in 1 ccm also soviel Antitoxin enthält, um 100 tödliche Gaben unschädlich zu machen. Man nennt diese letztere Antitoxinmenge auch eine Immunitätseinheit (IE). Als einfach tödliche Gabe oder auch Gifteinheit (DL²⁾) wird diejenige Menge eines zu prüfenden Giftes bezeichnet, die, Meerschweinchen von 250 g unter die Haut des Bauches eingespritzt³⁾, binnen durchschnittlich 4 Tagen⁴⁾ tötet. Ihre absolute Größe schwankt bei den

1) Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums. Klin. Jahrb. 6, 1897; Deutsch. med. Woch. 1898. 38; Berl. klin. Woch. 1903. 35—37 (vgl. auch seine „Gesammelten Arbeiten zur Immunitätsforschung“ 1904).

2) Dosis letalis.

3) Stets wird der Gleichmäßigkeit halber bei allen diesen Versuchen die Flüssigkeitsmenge von 4 ccm und eine etwas stumpfe Kanüle gewählt, die in der Gegend des Proc. xiphoideus in der Längsrichtung zwischen Haut und Muskeln eingeschoben wird.

4) Die verschiedene Empfänglichkeit der Tiere bedingt Schwankungen von einigen Tagen (s. u. die Tafeln in § 264).

einzelnen Giften erheblich, ebenso die Zahl der tödlichen Gaben, die von einer Immunitätseinheit neutralisiert wird. Um das betreffende Diphtheriegift genauer zu charakterisieren, empfiehlt es sich nach Ehrlich außer DL noch folgende „Grenzwerte“ festzustellen:

1. L_0 ¹⁾, d. h. die Giftmenge, die von einer Immunitätseinheit so vollständig neutralisiert wird, daß die Mischung²⁾ bei Meerschweinchen nicht die geringsten Veränderungen hervorruft, sie kann auch ausgedrückt werden durch die Zahl α der einfach tödlichen Gaben:

$$L_0 = \alpha \cdot DL.$$

2. L_+ ³⁾, d. h. die Giftmenge, die mit einer Immunitätseinheit vermischt, gerade noch die Meerschweinchen binnen 4 Tagen tötet.

Man könnte denken, daß L_+ eine tödliche Gabe mehr enthielt als L_0 , d. h. daß $L_+ = \alpha DL + DL$. In Wirklichkeit ist das aber nicht oder wenigstens nur ausnahmsweise der Fall (s. Tafel A). Vielmehr muß man $\beta + 1$ tödliche Gaben zu L_0 hinzufügen, um zu L_+ zu gelangen, es ist also

$$L_+ = (\alpha + \beta + 1) DL.$$

Wir werden später die Erklärung dafür erhalten.

Die folgende Tafel A (S. 837) gibt eine Anzahl⁴⁾ solcher Giftbestimmungen nach Ehrlich, Madsen⁵⁾, Dreyer, Madsen⁶⁾ und Morgenroth⁷⁾ wieder. Sie zeigt zunächst die starke Veränderlichkeit von DL, L_0 , L_+ , α und β . Es erhellt aus einigen dieser Zahlen (Nr. 4, 12, 14, 15) weiter die Tatsache, daß eine und dieselbe Diphtheriegiftlösung im Laufe der Zeit sehr erheblich an Giftigkeit einbüßt, dabei aber ihr Bindungsvermögen für das Diphtherieantitoxin, das sich in der absoluten Größe für L_0 und L_+ ausdrückt, nicht zu verändern braucht. (Auf die Ausnahmen davon, die in der Tafel auch zu finden sind, kommen wir später zurück.) Ehrlich hatte ähnliches schon beim Tetanusgift beobachtet und daraus auf die Entstehung von ungiftigen, aber doch noch bindefähigen „Toxoiden“ aus den Toxinen geschlossen.

1) = Limes O.

2) Man läßt die Mischung zweckmäßig etwa $\frac{1}{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen.

3) = Limes Tod (+).

4) Die späteren Giftbestimmungen Madsens (Zentr. Bakt. 34, 36 und 37) werden hier nicht aufgeführt (vgl. weiter unten § 276).

5) Annal. Pasteur 1899. 801.

6) Zeitschr. f. Hyg. 37. 250, 1901.

7) Ebenda 48, 1904.

Tafel A¹).

	DL in ccm	L+ in ccm	L ₀ in ccm	$\alpha + \beta + 1$	α	$\beta + 1$
1.	0,07	2,8	2,3	40	33	7
2.	0,03	1,25	0,95	42	32	10
3.	0,0125	0,48	0,415	39	33,2	5,8
4a.	0,003	—	0,305	—	100	—
4b.	0,009	0,355	0,305	39,4	33,4	6
5.	0,02	1,15	0,95	57,5	47,5	10
6.	0,027	3,05	2,6	113	96	17
7a.	0,008	—	—	—	—	—
7b.	0,0165	1,26	0,9	76,3	54,4	22
8.	0,014	0,59	0,5	42	35,7	6,3
9.	0,0039	0,48	0,42	123	108	15
10.	0,001	0,0292	0,0275	29,2	27,5	1,7
11.	0,075 (mg)	0,0084	0,0063 (mg)	112	84	28
12a.	0,0025	0,25	0,125	100	50	50
12b.	0,003	0,26	0,125	87	42	45
12c.	0,003	0,26	0,210	87	70	17
12d.	0,004	0,26	0,210	65	52	13
13.	0,04	3,2	2,6	80	65	15
14a.	0,042	2,6	3	62	?	?
14b.	0,084	2,6	2,1	31	25	6
14c.	0,126	3,1	2,1	24,6	16,6	8
14d.	0,15	3,1	2,1	21	14	7
15a.	0,006	0,82	0,6	136,7	100	36,7
15b.	0,009	0,82	0,6	91	66	25
16.	0,0033	?	0,44	?	133	?
17.	0,0076	0,76	0,6	100	79	21
18a.	0,0015	0,2	0,05	133	33	100
18b.	0,0027	0,2	0,05	74	18,5	55,5
19.	0,011	0,78	0,6	70	55	15

1) Nr. 1—12 nach Ehrlich. Nr. 11 trocken konserviertes Gift (Behring). Die Buchstaben a, b, c, d hinter den Zahlen bedeuten dasselbe Gift zu 2—4 verschiedenen Zeiten. Nr. 13—16 nach Madsen. Nr. 17 nach Dreyer und Madsen a. a. O. Nr. 18 nach Dreyer und Madsen Festschrift des Serum Instituts Kopenhagen 1902; vgl. Madsen Zentr. Bakt. 34. 7, 1903 und Ehrlich (1903). Nr. 19 nach Morgenroth a. a. O. und von Dungern Deutsch. med. Woch. 1904. 8.

Nach ihm kann man sich das Giftmolekül ursprünglich bestehend denken aus einem Kern, an dem eine giftige (toxophore) und eine bindende (haptophore) Atomgruppe befestigt sind. Durch die letztere vereinige es sich mit einer entsprechenden Bindegruppe des Antitoxinmoleküls. Das Stehen des Giftes im Brutschrank oder das Lagern im Eisschrank zerstöre die giftige Gruppe teilweise, während die bindende übrigbleibe. Stärkere Schädlichkeiten, wie Temperaturen von 60 bis 100°, Jodtrichlorid, Jodlösung u. a. m. vernichten gewöhnlich nicht nur die toxophore Gruppe vollständig, so daß ganz ungiftige Lösungen entstehen, sondern auch einen Teil der bindenden Gruppen. Gerade diese giftfreien, aber doch noch bindefähigen Lösungen sind es aber auch, die die Immunisierung — wenigstens kleiner Tiere¹⁾ — gegen Diphtherie, Tetanus usw. ermöglichen. Der Gedanke, daß die bindenden Gruppen auch die immunisierenden seien, liegt also nicht fern. In der Tat zieht Ehrlich diesen Schluß und geht noch weiter, indem er auch die giftbindenden Gruppen in den lebenden Tierzellen mit denen der Antitoxine identifiziert. Wir werden auf diese Ehrlichschen „Seitenkettentheorie“ später (§ 279) zurückzukommen haben, hier geht sie uns nicht weiter an, da es uns nur auf die Beziehungen des Diphtheriegiftes zu seinen Antitoxinen und die daraus für seinen Bau zu ziehenden Schlüsse ankommt.

§ 263. **Diphtherie-Toxone.** Außer den ungiftigen Toxoiden, deren Auftreten hauptsächlich die Abschwächung des Diphtheriegiftes erklärt, finden sich neben den vollgiftigen Toxinen in der Giftbouillon von Anfang an noch die schwächer und in anderer Weise giftigen **Toxone**²⁾, die dadurch nachweisbar werden, daß die Erscheinungen, die sie am Tier hervorrufen, anderer Art sind als die der echten Toxine und daß ihre Verwandtschaft zu den Antitoxinen — die „Avidität“ ihrer haptophoren Gruppe — eine geringere ist als die der Toxine und Toxoiden. Die Tatsachen, die er bei Ermittlung der L_+ -Gabe des Diphtheriegiftes beobachtete, haben Ehrlich zur Aufstellung der Toxone geführt. Man erhält, wie wir oben gesehen, die L_+ -Gabe, indem man zu einer Immunitätseinheit Diphtherieserum zunächst soviel Diphtheriegift zusetzt, wie durch das Serum noch vollständig neutralisiert werden kann, es ist das L_0 , oder um ein Beispiel **Madsens** zu wählen³⁾.

1) Große Tiere, wie z. B. Pferde, können auch mit starkem Gifte allein immunisiert werden.

2) Vgl. auch Anm. 4 auf S. 832.

3) In unserer Tafel Nr. 13.

2,6 ccm einer Diphtheriebouillon, die in einer Menge von 0,04 Meer-schweinchen von 250 g in 4 Tagen tötet. 2,6 ccm enthalten danach 65 einfach tödliche Gaben. Jetzt steigert man die Giftmenge, die man zu der Immunitätseinheit zusetzt, allmählich auf 2,7, 2,8, 2,9 usw. bis 3,3, indem man die betreffenden Serumgiftmischungen immer frisch anfertigt und gleichzeitig einer Anzahl von 250 g schweren Meer-schweinchen einspritzt. Die Tafel bei M a d s e n lehrt uns, daß die Tiere, die bei einer Gabe von 2,6 ccm noch keine Krankheitserschei-nungen hatten, auch wenn sie 0,4 ccm, d. h. das Zehnfache der einfach tödlichen Gabe zu L_0 zubekommen haben, der Regel nach nicht schnell zu sterben pflegen, sondern zuerst nur leichte Störungen, v o r ü b e r - g e h e n d e Schwellung an der Impfstelle aufweisen, dann zwar sterben, aber erst nach mehreren Wochen, und ohne daß sie andere Veränderungen als L ä h m u n g e n zeigten. Ganz anders verhalten sich Meerschweinchen, denen man Bruchteile, z. B. $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ einer einfachen tödlichen Gabe allein beibringt: sie bekommen a u s - g e d e h n t e Verhärtungen, die Haut stirbt darüber ab, die Haare fallen in weitem Umfange aus, und sie sterben früher oder später doch noch unter starker Abmagerung, aber gewöhnlich ohne L ä h - m u n g e n. Erst wenn man näher an die tödliche Gabe herankommt, werden Lähmungen häufiger¹⁾. Man darf daher annehmen, daß in dem genannten Beispiel der Zusatz von 0,4 ccm Bouillon zu dem glatt neutralisierten Toxin-Antitoxingemisch ($L_0 + 1$ IE) — kein eigent-liches Gift aus seiner Bindung mit dem Antitoxin freigemacht hat, sondern ein andersartiges schwächeres Gift, das E h r l i c h jetzt Toxon nennt und früher Epitoxoid genannt hat, um damit auszudrücken, daß es von dem Antitoxin erst n a c h dem Toxin und den Toxoiden gebunden wird, also eine geringere Verwandtschaft zu ihm haben muß. Erst wenn wir uns der Grenze L_+ nähern, in unserem Beispiel bei Zugabe von 3,1 ccm Gift zu der Immunitätseinheit, tritt bei den meisten Tieren die echte Giftwirkung hervor, sie sterben aber durchschnittlich erst erheblich später als bei der akuten Vergiftung (4 Tage), die ihrerseits erst dann möglich ist, wenn neben den Toxonen noch eine einfach tödliche Giftgabe keine Verbindung mit dem Antitoxin mehr findet, d. h. bei Giftmengen von 3,2 ccm.

Während die Toxoide bisher noch nicht von den Toxinen getrennt sind, scheint das bei den Toxonen manchmal zu gelingen. C a l c a r ²⁾ ging zu dem Zwecke so vor, daß er eine Diphtheriegiftbouillon zunächst

1) Vgl. darüber besonders M o r g e n r o t h, Zeitschr. f. Hyg. 48, 2, 1904.

2) Berl. klin. Woch. 1904, 39.

auf dem gewöhnlichen Wege durch Dialyse möglichst von Salzen, Peptonen usw. reinigte, dann die Dialyse wiederholte mit einer Membran, deren Spannung er künstlich verstärkt hatte. Jetzt ging auch das Toxin hindurch, und er erhielt schließlich eine Lösung, die frei war von echtem Toxin, aber noch Toxonwirkung zeigte. Erst wenn die Spannung der Membran noch weiter verstärkt wurde, dialysierte auch das Toxon, während nur das Eiweiß zurückblieb. Der Versuch würde also, wenn sein Ergebnis sich bestätigte¹⁾, lehren, daß das Molekül des Toxins größer ist als das des Peptons, aber kleiner als das des Toxons, und daß das Toxonmolekül kleiner ist als das Eiweißmolekül.

Alle Erfahrungen, die über die Absättigung von Diphtheriegift durch antitoxische Sera vorliegen, sprechen dafür, daß das Toxon zwar eine geringe Verwandtschaft zum Antitoxin hat, aber doch die gleichen bindenden Gruppen besitzt. So ist es denn auch im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie (s. o. S. 838) nicht verwunderlich, daß Mischungen von Diphtheriegift und Serum, die so abgesättigt sind, daß sie nur freie Toxone enthalten — also in dem Gebiet zwischen L_0 und L_+ —, Tiere auch gegen das echte Toxin immunisieren. Madsen und Dreyer²⁾ haben derartige Versuche mit Erfolg an Kaninchen, Ziegen und Pferden angestellt. Bei Kaninchen schien sich dabei die auffällige Tatsache zu ergeben, daß Gift-Antitoxinmischungen, die für Meerschweinchen ganz ungiftig waren, z. B. L_0 , Kaninchen noch unter den Erscheinungen der Toxonvergiftung töteten, und solche, die bei Meerschweinchen wie Toxone wirkten, Kaninchen durch echte Toxinvergiftung töteten. Morgenroth³⁾ führt in einer methodologisch sehr interessanten Arbeit diese Ergebnisse darauf zurück, daß Madsen und Dreyer die Kaninchen ins Blut, die Meerschweinchen unter der Haut impften, und die Toxin-Antitoxinmischungen unmittelbar nach ihrer Herstellung einspritzten. Der Unterschied schwindet, wenn man beide Tierarten vom Blut⁴⁾ aus oder auch beide von der Haut aus behandelt, oder wenn man die Mischung des Serums mit dem Gift genügend lange Zeit — 1 Stunde bei 40° und 24 Stunden bei 20° — stehen läßt, ehe man sie den Tieren einverleibt. Soviel Zeit braucht nämlich das Gift, um sich mit dem Gegengift dauerhaft zu vereinigen. Allerdings macht sich die

1) Nach Römer (ebenda 1905, 8) wäre das nicht der Fall.

2) Zeitschr. f. Hyg. 37, 1901.

3) Berl. klin. Woch. 1904. 20 und Zeitschr. f. Hyg. 48, 1904.

4) Die Einspritzung des Giftes ins Blut gelingt bei Meerschweinchen am besten durch Einstich in das Herz.

Notwendigkeit nicht bemerkbar, wenn man die Mischungen, wie es gewöhnlich geschieht, unter die Haut einbringt. Daher hatte Ehrlich früher geglaubt, die Bindung mit dem Antitoxin erfolge sehr schnell. Vielleicht übt aber das Unterhautgewebe nur einen beschleunigenden (katalytischen) Einfluß auf die Reaktion gewisser Gifte und Gegengifte aus (§ 278). Auch insofern beeinflußt dieser Weg der Einverleibung den Ausfall der Tierversuche mit Diphtheriegift, als die Unterhaut einen beträchtlichen Teil des freien Giftes festhält und nur den kleineren Teil in die Säftemasse übergehen läßt. So kommt es, daß bei Einspritzung unter die Haut fast dreimal größere Gaben Gift nötig sind, um den Tod an allgemeiner Vergiftung zu bewirken, als bei Einspritzung ins Blut¹⁾.

§ 264. **Giftspektren. Proto-, Deutero-, Tritotoxine und -Toxoide.** Wir kommen jetzt zu einem weiteren, von Ehrlich angewandten Verfahren, das die verwickelte Zusammensetzung der Diphtheriegiftlösungen noch genauer aufzuklären gestattet, als es bei der Bestimmung des L_0 und L_+ -Wertes möglich ist, der teilweisen Absättigung der Gifte mit Antitoxin. Man geht dabei von der L_0 -Gabe aus, vermindert schrittweise die Zugabe von Immunsérum um Bruchteile der Immunitätseinheit und stellt dann fest, wieviel tödliche Gaben in dem betreffenden, unvollkommen neutralisierten Gemische vorhanden sind. So fand z. B. Ehrlich²⁾ bei einem Gift, bei dem $L_0 = 84$ tödlichen Gaben war:

1.	$L_0 + \frac{176}{200} \text{ IE}$	= nur Toxonwirkung, also noch keine tödliche Gabe in Freiheit	} Unterschied 3 DL.
2.	$L_0 + \frac{150}{200} \text{ IE}$	= 3 tödliche Gaben	
3.	$L_0 + \frac{115}{200} \text{ IE}$	= 7 „ „	
4.	$L_0 + \frac{100}{200} \text{ IE}$	= 23 „ „	
5.	$L_0 + \frac{50}{200} \text{ IE}$	= 62 „ „	
6.	$L_0 + \frac{0}{200} \text{ IE}$	= 84 „ „	

1) Noch viel größere Unterschiede erhält man, wenn man Dysenteriegift bei Affen unter die Haut bzw. ins Blut einführt (§ 289).

2) Deutsch. med. Woch. 1898. 38 Gift Nr. II.

Man kann diese Ergebnisse in ein Koordinatensystem eintragen, dessen Abszissen die Zahl der zugefügten Bruchteile der Immunitätseinheit (z. B. in Zweihundertsteln) angeben und dessen Ordinaten die Giftmenge (in Bruchteilen einer tödlichen Gabe) darstellen, die bei Weglassung eines Bruchteils der Immunitätseinheit frei wird. Wenn man die von diesen Ordinaten eingenommene Fläche ausfüllt, erhält man die Gesamtmenge der in L_0 enthaltenen tödlichen Gaben. Dasselbe Schema dient aber auch dazu, die neben dem eigentlichen Toxin in der Giftmenge L_0 enthaltenen Toxoide und Toxone darzustellen, wenn man die Ordinaten überall bis zu der Höhe DL verlängert: der nicht ausgefüllte Teil der dadurch geschaffenen Fläche entspricht den Toxonen und Toxoiden, die ganz die Fläche der Summe der bindenden Elemente, die in der Giftmenge L_0 enthalten sind. Die Menge dieser Elemente, die von einem zweihundertsten Teil der Immunitätseinheit gesättigt wird, nennt Ehrlich eine Bindungseinheit; der L_0 -Wert umfaßt also 200 solcher Einheiten. Die Wahl dieser Zahl hat darin ihre Begründung, daß in manchen Giften, wie z. B. den vorliegenden, wenigstens streckenweise die Bindungseinheit mit der Gifteinheit (der einfach tödlichen Gabe) zusammenfällt.

In dem vorliegenden Beispiel würde dieses „Giftspektrum“ nach Ehrlich folgendes Ansehen haben. Auf der Strecke 200—176 der Abszissenachse werden die Ordinaten gleich 0 sein, weil durch Fortlassung von $\frac{24}{200}$ IE kein eigentliches Gift frei wird, es ist das die Strecke der Toxone. Von 176—150 werden 3 DL frei, bei gleichmäßiger Verteilung ergäbe das $\frac{3}{26} = \text{etwa } \frac{1}{8}$ DL für jede wegfallende Bindungseinheit. Die Ordinaten bleiben dieselben auf der Strecke 150—115, denn es kommen vier tödliche Gaben zu den drei schon vorhandenen hinzu, wir haben also $\frac{4}{35} = \text{etwa } \frac{1}{8}$ DL auf jede Bindungseinheit. Auf der Strecke 115—100 gehen plötzlich die Ordinatenwerte stark in die Höhe: es werden für 15 wegfallende Bindungseinheiten 16 DL, also für jedes Bruchteil $\frac{16}{15} = \text{etwa } 1$, d. h. also eine ganze tödliche Gabe (s. o.) frei. Auf der Strecke 100—50 werden weitere 39 DL frei, das würde im Durchschnitt für jede Bindungseinheit $\frac{39}{50} = \text{etwa } \frac{4}{5}$ DL bedeuten. Die Verteilung könnte in Wirklichkeit, wie wir gleich sehen werden, aber eine etwas andere, ungleichmäßige sein. Von 50—0 werden weitere 22 DL entbunden, das ergäbe für jede Bindungseinheit also $\frac{22}{50}$ DL. Um scharfe Grenzen zwischen den einzelnen Teilen des Spektrums und nicht zu viele Veränderungen der Giftaffinität zu bekommen, hat Ehrlich angenommen, daß sich die Giftmengen auf der Strecke 100—50 in anderer Weise verteilen: von 100—72 sollen 28 DL und von 72—50 11 DL frei werden. Dadurch würde die Giftverteilung zwischen 100—72 der vorhergehenden (115—100) und die zwischen 72—50 der folgenden (50—0) entsprechen. Es würde das voraussetzen, daß,

wenn man den Sättigungspunkt $L_0 + \frac{72}{200}$ IE geprüft hätte, man dort 51 DL in Freiheit gefunden hätte. So erhält man, vom Toxon abgesehen, ein dreiteiliges Giftspektrum (Fig. 1).

Bei der Untersuchung anderer Gifte geben Ehrlich und Madsen an, ähnliche Verhältnisse gefunden zu haben. Leider sind nur sehr wenige dieser Versuche so ausführlich mitgeteilt, daß man sich ein genaues Bild davon machen kann. Derartige Giftprüfungen sind außerordentlich mühsam, sie erfordern sehr viele Tiere und lassen dennoch der Willkür des Beurteilers einen gewissen Spielraum, weil bei der verschiedenen Empfänglichkeit der Tiere keine ganz genauen Zahlen zu erhalten sind¹⁾. Als sehr be-

L

Fig. 1.

lehrendes Beispiel dafür geben wir hier den ausführlichsten Versuch, der bisher veröffentlicht worden ist, wieder. Es handelt sich um das Gift 14 c unserer Tafel A (S. 837). Nachdem Madsen die einfach tödliche Gabe DL dieses Giftes durch 24 Versuche an Meerschweinchen von 250 g auf 0,126 ccn und durch weitere 22 Versuche die Werte L_0 auf 2,1 = 16,6 DL, L_4 auf 3,1 = 24,6 DL festgestellt hatte, suchte er mit Hilfe von 84 Meerschweinchen (Taf. B) die Zusammensetzung des Giftes zu ermitteln.

1) Vgl. darüber namentlich die späteren Arbeiten von Madsen, Arrhenius und Madsen (Zentr. Bakt. 34, 36 und 37) und Morgenroth (Zeitschr. f. Hyg. 48). Die ersteren Forscher wurden, wie wir später sehen werden (§ 276), durch ihre neuen Giftanalysen zu einer ganz anderen Auffassung, insbesondere zur Leugnung der Prototoxide und Toxone geführt. Um die Zufälligkeiten, die sich aus der ungleichen Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen die Vergiftung ergaben, auszuschalten, benutzten sie schließlich die Gewichtsverminderung der Tiere als Maßstab der Giftwirkung. Mit welchem Recht, bleibt dahingestellt. Nach Craw und Dean (Journ. of hyg. 1907. 512 und 589) wären 15 % der Meerschweinchen unempfindlich gegen Diphtheriegift. Innerhalb gewisser Grenzen gelte die Regel: Letale Gabe \times letale Zeit = Konstans. Die Gewichtskurven seien nur zu gebrauchen, wenn man von dem Gewicht nach 24 Stunden ausgehe, weil am 1. Tage noch Gewichtszunahme erfolge. Die Verfasser bestätigen die Schlüsse von Arrhenius und Madsen nicht.

T a f e l B.

2,1 ccm Gift abgesättigt durch $\frac{x}{200}$ IE x	Die vorstehen- de Mischung wird geteilt in y Teile u. diese eingespritzt y	Ergebnis der Einspritzung in Meerschweinchen von 250 g	Bemerkungen
166	1	† an Lähmung	Toxongrenze(?)
156	1	† „ Abzehrung	
156	2	† „ Lähmung	
146	1	† in 7 T.	
146	2	† an Lähmung	
146	3	† „ „	
140	1	† in $4\frac{1}{2}$ T.	1 DL frei
136	2	† an Abzehrung	
136	3	† „ „	
136	4	† „ Lähmung	
130	2	† in 4 T.	2 DL frei
126	3	† „ 13 „	
126	4	† an Lähmung	
126	5	† „ „	
120	3	† 6 T.	3 DL frei (?)
120	4	† 13 T.	
116	4	† $4\frac{1}{2}$ T.	
116	5	† an Lähmung	
116	6	† „ „	4 DL frei (?)
106	6	† „ „	
106	7	† „ „	
100	4	† in 3 T.	
100	5	† „ 4 „	
100	5	† „ 4 „	5 DL frei
100	5	† „ $4\frac{1}{2}$ T.	
100	6	† „ 8 T.	
100	6	† an Abzehrung	
100	6	† „ Lähmung	
100	6	† „ „	
100	7	bleibt leben ohne Lähmung	
100	9	† an Lähmung	
100	9	† „ „	
100	12	† „ „	
100	12	† „ „	
100	15	† „ „	
100	15	† „ „	
90	5	† nach $3\frac{1}{2}$ T.	
90	6	† in 5 T.	6 DL frei
90	7	† $3\frac{1}{2}$ „	
80	6	† $3\frac{1}{2}$ „	
80	7	† in 6 „	7 DL frei
80	8	† „ 16 „	

2,1 ccm Gift abgesättigt durch $\frac{x}{200}$ IE x	Die vorstehen- de Mischung wird geteilt in y Teile u. diese eingespritzt y	Ergebnis der Einspritzung in Meerschweinchen von 250 g	Bemerkungen
70	6	† in 3 T.	8 DL frei
70	7	† „ 3 $\frac{1}{2}$ T.	
70	7	† „ 6 T.	
70	8	† „ 3 „	
60	8	† 3 T.	9 DL frei
60	9	† 3 „	
60	10	† in 12 T.	10–12 DL frei (?)
50	10	† „ 4 T.	
50	10	† „ 4 „	
50	10	† „ 4 $\frac{1}{2}$ T.	
50	12	† „ 4 T.	
50	12	† „ 7 „	
50	12	† „ 7 „	Versuchszahl ungenügend 16,6 DL frei (?)
50	14	† „ 7 $\frac{1}{2}$ T.	
50	15	† an Lähmung	
50	15	† in 3 $\frac{1}{2}$ T.	
50	20	† an Lähmung	16,6 DL frei (?)
50	20	† in 6 T.	
40	15	† 6 $\frac{1}{2}$ T.	
40	20	† in 12 T.	
40	20	† „ 7 „	
30	10	† „ 3 „	
30	10	† „ 3 „	16,6 DL frei (?)
30	12	† „ 7 „	
30	12	† „ 3 „	
30	14	† „ 4 „	
30	14	† „ 7 „	
30	20	† 6 $\frac{1}{2}$ „	
30	25	† an Lähmung	nicht mehr als 12 DL frei (?) Versuchszahl ungenügend
30	25	† „ „	
25	12	† in 6 T.	
25	15	† „ 16 „	
25	15	† „ 7 „	(?) Versuchszahl ungenügend
25	20	† an Lähmung	
25	20	† in 16 T.	
25	25	† an Lähmung	
25	25	lebt mit Lähmung	(?) Versuchszahl ungenügend
20	25	† an Lähmung	
20	25	† „ „	
10	25	† „ Abzehrung	(?) Versuchszahl ungenügend
10	25	bleibt leben (ört- liche Schwel- lung)	

M a d s e n entwickelt nach diesem Versuch das folgende Giftspektrum (Fig. 2).

Danach wären auch hier drei Teile zu unterscheiden. Uns scheint aber die Strecke von 50—0 sehr willkürlich festgestellt zu sein.

In einigen anderen Fällen scheinen die Giftspektren mit größerer Sicherheit bestimmt worden zu sein. Besonders interessant sind die

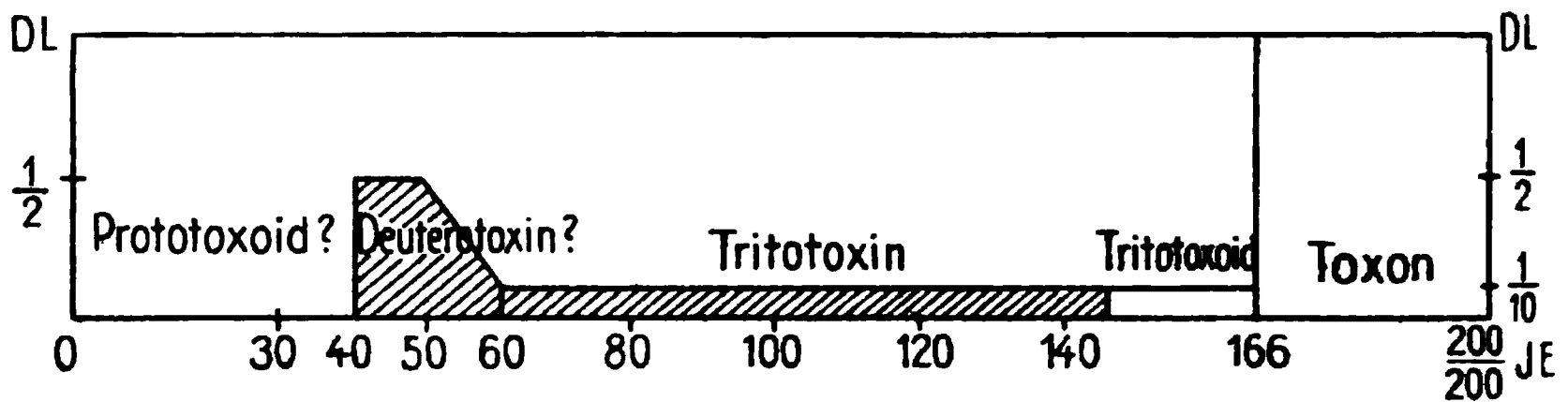


Fig. 2.

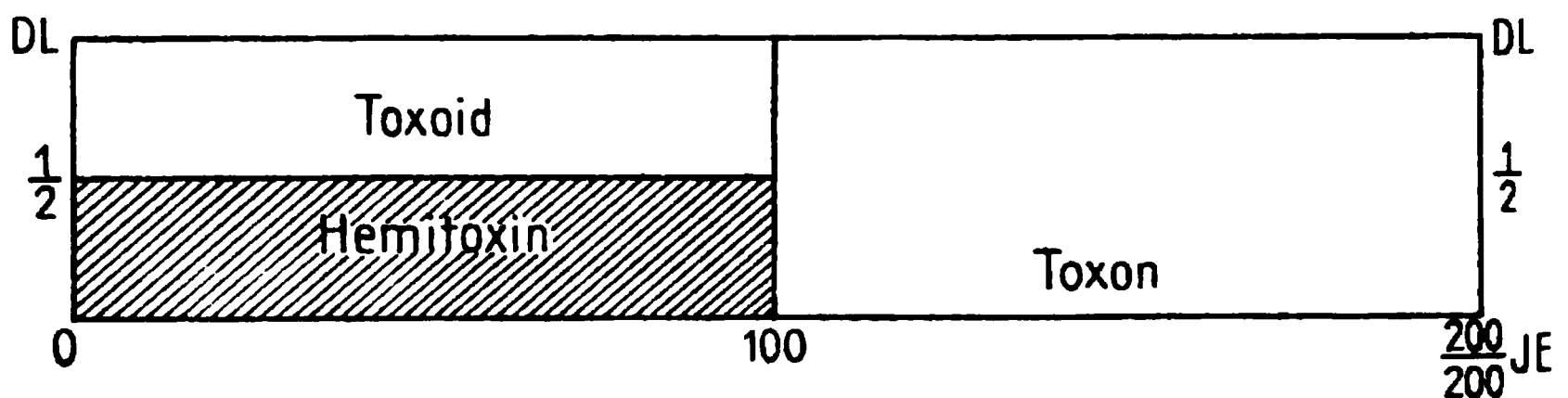


Fig. 3a. Gift 12a.

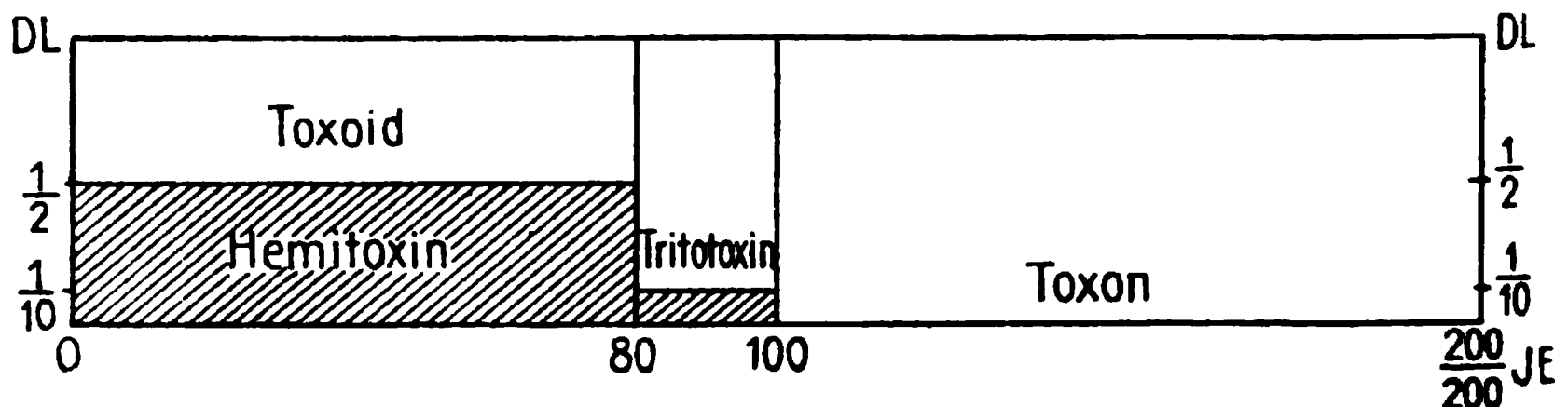


Fig. 3b. Gift 12b.

zahlreichen Veränderungen, die E h r l i c h ¹⁾ bei einem seiner Gifte (Nr. 12 der Tafel A) beobachtet hat. Auch hier finden wir die D r e i - t e i l u n g d e s G i f t e s schließlich wieder (Fig. 3a—d).

E h r l i c h unterscheidet den Teil des eigentlichen Gifts, der dem Toxongebiet am nächsten liegt, d. h. denjenigen, der bei der teilweisen Absättigung am ersten frei wird, also die geringste Verwandtschaft zum Antitoxin hat, als T r i t o t o x i n; die folgenden mit etwas höherer

1) Deutsch. med. Woch. 1898. 38 und Berl. klin. Woch. 1903. 35 bis 37. (Hier wird Gift 12 als Nr. V bezeichnet.)

Verwandtschaft als *Deutero*toxin, den Teil, der am festesten mit den Antitoxinen verkettet ist, als *Proto*toxin. Bisher scheint man noch kein Diphtheriegift gefunden zu haben, in dem alle drei Giftportionen als Vollgifte vorhanden gewesen wären, wohl solche (12a), in denen sie gleichmäßig in Halbgifte (Hemitoxin) und Toxoid verwandelt waren.

Das *Tritotoxin* findet man gewöhnlich schon sehr früh größtenteils — etwa zu $\frac{9}{10}$ — in ungiftiges Toxoid (*Tritotoxoid*) umgewandelt, doch ist es bei Gift 12a (Fig. 3a) noch als Hemitoxin vorhanden.

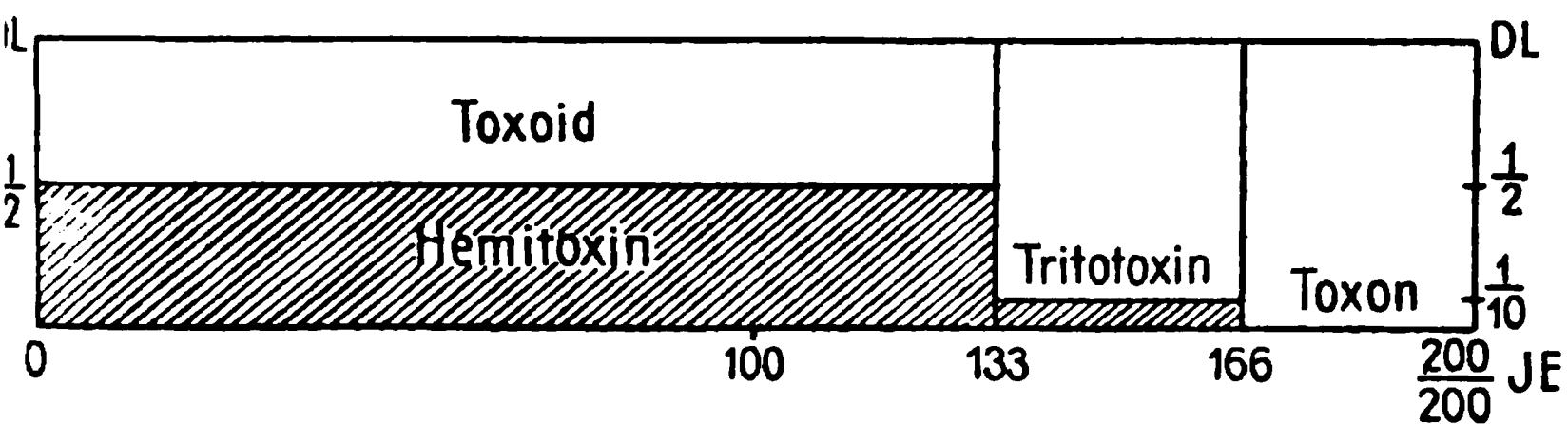


Fig. 3c. Gift 12c.

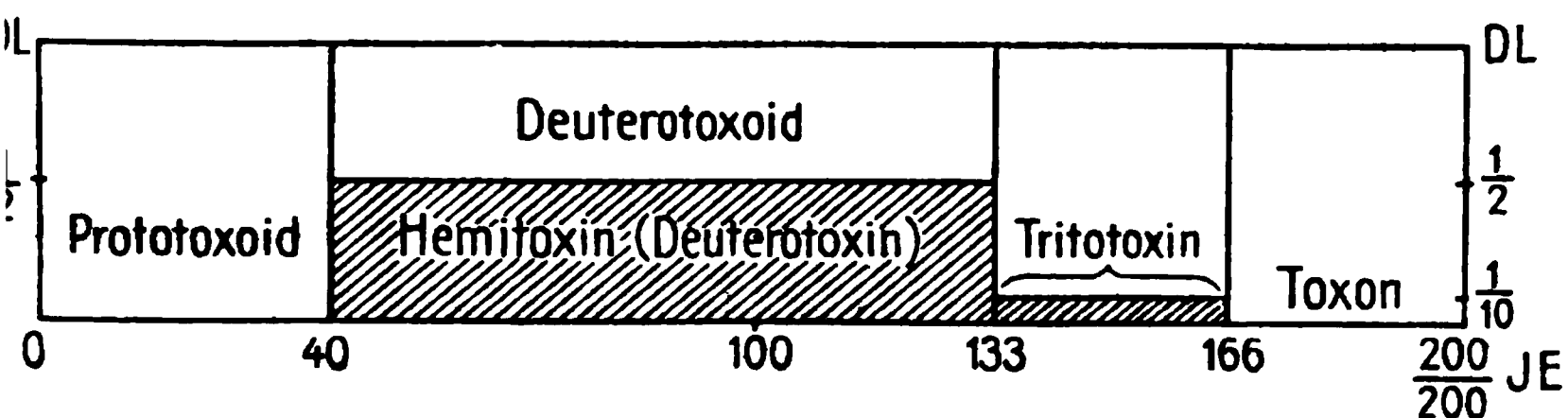


Fig. 3d. Gift 12d.

Das *Deutero*toxin ist verhältnismäßig am beständigsten, es ist in unserm ersten Gift (Fig. 1) noch als Vollgift¹⁾ und auch in Gift 12d (Fig. 3d) noch als Halbgift (Hemitoxin) enthalten.

Das *Proto*toxin endlich zerfällt ebenfalls ziemlich früh zu Hemitoxin und schließlich noch vollständiger als das *Tritotoxin*, so daß die erste Strecke mancher Giftspektren (von 0 an gerechnet) von dem ganz ungiftigen Prototoxoid eingenommen wird (Gift 12d und das *Madsen*sche Gift Fig. 2). Mit anderen Worten heißt das: wir finden dann, wenn wir die L_0 -Menge des Giftes 12d mit $\frac{40}{200}$ der Immuni-

1) Ein Gift, in dem das Deuteroxin ebenfalls vollständig erhalten, das ganze Prototoxin aber zu Toxoid zerfallen ist, beschreibt *Madsen* (1899) als Gift C. (Nr. 15a der Tafel A).

tätseinheit absättigen, die Giftigkeit des Gemisches ebenso hoch als die des nicht mit Serum vermischten Giftes. Das Toxon braucht an diesen Veränderungen des eigentlichen Giftes nicht teilzunehmen, wie z. B. die Übereinstimmung zwischen Gift 12a und 12b zeigt, doch lehren die Formen 12c und d desselben Giftes, daß sich die Toxonmenge stark verringern kann. Ehrlich führt das auf Bildung von „Toxonoiden“ zurück, die sich durch Veränderung der toxischen Atomgruppe von den Toxonen unterscheiden sollen. Zwingende Gründe gibt er selbst dafür freilich nicht an (s. u. § 265).

Durch das teilweise Verschwinden der Toxone wird der L_+ -Wert nicht berührt, wohl aber L_0 . So hielt sich die erstere Zahl in allen Formen des Giftes 12 auf 0,25—0,26 ccm (Tafel A), während L_0 von 0,125 auf 0,210 stieg. Auch sonst ist es meist ebenso. Doch ist das Gift 14 (Tafel A) ein Beispiel für den umgekehrten Fall, indem L_0 beständig bleibt und L_+ steigt. Madsen möchte diese scheinbare Verbreiterung der Toxonzone nicht durch Vermehrung der Toxone erklären, sondern durch vollständige Umwandlung des Tritotoxins in seinem letzten Teil zu Toxoid. Die bindende Kraft des Giftes bleibt so zwar unverändert, beim Übergang von $L_0 + 1$ IE zu $L_+ + 1$ IE müssen aber außer der gleichen Menge von Toxinen noch eine Anzahl von Tritotoxoidmolekülen aus ihrer Bindung mit dem Antitoxin verdrängt werden, ehe eine einfache tödliche Giftgabe frei werden kann. Die Zahl der zuzufügenden Gifteinheiten ($\beta + 1$) wird also größer und damit auch L_+ .

Bemerkenswert ist das regelmäßige Mengenverhältnis, in dem die einzelnen Bestandteile der Gifte zueinander stehen.

Wenn man die Ziffern für sich ansieht (Tafel A auf S. 837), die die Anzahl (α) der in der L_0 -Gabe enthaltenen einfach tödlichen Gaben (DL) bezeichnen, so sieht man, daß sie genau oder annähernd einfache Bruchteile der Zahl 100 darstellen, z. B. 16,5; 33; 66; 25; 50; bei einigen besonders frischen Giften findet sich die Zahl 100 selbst. Die Abschwächung des Diphtheriegiftes, der Übergang der Toxine in Toxoid scheint also in regelmäßiger Weise zu erfolgen, indem z. B. aus einem Molekül Vollgift ein Molekül Halbgift und ein Toxoid hervorgeht. So entsteht aus dem Vollgift das Halbgift. Da die drei Teilgifte (Proto-, Deutero- und Tritotoxin) häufig auch in einem einfachen Zahlenverhältnis (z. B. 1 : 1 : 1) zueinander stehen und unabhängig voneinander in ähnlicher Weise zerfallen, so erklären sich dadurch die Zahlen 66, 33, $16\frac{1}{2}$. Einen allzu großen Wert auf diese Regelmäßigkeiten darf man übrigens nicht legen. Die mitgeteilten Giftspektren selbst sprechen dagegen.

Auch das Verhältnis, in dem die Toxone im Gift enthalten sind, ist ein ähnlich regelmäßiges; in manchen Giften (12a und b) ist es in gleicher Menge wie das echte Toxin enthalten, in vielen Fällen umfaßt es nur den sechsten Teil des Giftspektrums; Gift Nr. 10 (Tafel A) ist vielleicht ganz frei von Toxonen, manche enthalten wieder dreimal soviel Toxon wie Toxin (Nr. 18 Tafel A). In solchen Fällen kann es vorkommen, daß schon Giftmengen, die kleiner sind als eine einfach tödliche Gabe, Toxonwirkungen

entfalten, während sonst nur ein mit Antitoxin teilweise abgesättigtes Mehrfaches von DL dazu imstande ist¹⁾.

Die Summe der in L_0 enthaltenen Gifteinheiten (DL) schwankt nach der Tafel A zwischen 14 und 133. Höhere Zahlen sind noch nicht gefunden worden. Auch die in einzelnen Bezirken des Giftspektrums (Deutero-toxin) bestimmten Giftmengen betragen für die Bindungseinheit nie mehr als eine Gifteinheit. Die Einteilung von L_0 in 200 Bindungseinheiten hat sich also bisher bewährt. Auch die sonstigen Annahmen Ehrlichs über den Bau des Diphtheriegifts darf man vielleicht als den Ausdruck von Tatsachen ansehen. Einzelheiten, z. B. die Grenzen zwischen dem Proto- und Deutero-toxin, sowie zwischen dem Deutero- und Tritotoxinbezirk, und namentlich die Frage der Toxonoide, verdienen freilich noch aufgeklärt zu werden (§ 265).

§ 265. Epitoxonoide. Von vornherein ist die Ehrlichsche Ansicht, daß aus den Toxonen ungiftige Körper, die „Toxonoide“, entstehen können, wie die Toxoide aus den Toxinen, nicht unwahrscheinlich. Aber auch wenn man von diesem vorläufig nicht erwiesenen Zusammenhang absieht, wäre es trotzdem denkbar, daß in den Giftlösungen Stoffe existierten, die zwar die gleiche bindende Gruppe wie die übrigen Giftbestandteile besäßen, die sich aber wegen ihrer völligen Unschädlichkeit im Tierversuch und ihrer noch hinter den Toxonen zurückstehenden schwachen Verwandtschaft zu den Antitoxinen auf die bisher übliche Weise nicht nachweisen ließen. In der Tat hat von D u n g e r n ²⁾ das Vorhandensein derartiger Stoffe, die er „Epitoxonoide“ nennt, im Diphtheriegift wahrscheinlich gemacht, indem er die Absättigungsmethode Ehrlichs abänderte. Er ging dabei von der Beobachtung D a n y s z ' ³⁾ (dem sog. „D a n y s z -schen Versuch“) aus, daß die Menge des Rizins oder Diphtheriegifts, die nötig ist, um vom L_0 - zum L_+ -Wert zu gelangen, kleiner ist, wenn man sie nicht auf einmal zusetzt, sondern erst einige Stunden, nachdem man die L_0 -Antitoxinmischung hergestellt hat. Zunächst konnte von D u n g e r n diesen Befund vollständig bestätigen. Der L_0 - und

1) Die Bestimmung der Toxonmenge einer Giftlösung ist auch ohne das Ehrlichsche Absättigungsverfahren möglich, wenn L_0 und L_+ gegeben oder, was dasselbe ist, α und β bekannt sind. Wir haben nämlich offenbar das Verhältnis $\frac{200-z}{200} = \frac{\alpha}{\alpha+\beta}$, wo z die Bindungseinheiten der Toxone ausdrückt. Daraus folgt $z = \frac{200\beta}{\alpha+\beta}$. Berechnet man z nach den in der Tafel A gegebenen Werten für α oder β , so erhält man Zahlen, die von 25—100 schwanken. Besonders häufig ist 33, was auf das im Text angegebene Verhältnis hinausläuft.

2) Deutsch. med. Woch. 1904. 8/9.

3) Annal. Pasteur 1902.

L_+ -Wert eines älteren Giftes wurde nach der üblichen Weise auf 0,6 und 0,78 ccm ermittelt (vgl. Nr. 19, Tafel A S. 837).

Die betreffenden Giftmengen wurden mit der Immunitätseinheit des Serums auf einmal versetzt und 2 Stunden später Meerschweinchen von 250 g mit folgendem Ergebnis eingespritzt.

0,6	0,63	0,66	0,7	0,74	0,78 ccm
glatte	geringe	geringe	deutliche	starke	sehr starke
Heilung	Schwellung	Schwellung	Schwellung	Schwellung	Schwellung
					u. Tod nach
					3 Tagen.

Mischte man aber erst die L_0 -Gabe (0,6 ccm) mit der Immunitätseinheit, ließ dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur und noch 1 bis 2 Stunden bei 37° stehen und setzte jetzt weitere Mengen der Gifte zu, so ergab die Einspritzung in einem ersten Versuche:

0,6	0,63	0,66	0,7	0,74 ccm
glatte	geringe	deutliche	Tod in	Tod in
Heilung	Schwellung	Schwellung	$1\frac{1}{2}$ Tagen	2 Tagen

und in einem zweiten Versuch:

0,66	0,67	0,68 ccm
starke Schwellung	sehr starke Schwellung	Tod in $3\frac{1}{2}$ Tagen
	und Tod in 4 Tagen.	

Statt 0,78 ccm waren also nur 0,67 ccm, d. h. 0,11 ccm weniger Gift nötig, um den L_+ -Wert zu erreichen, wenn man die Absättigung des Antitoxins mit dem Gift nicht auf einmal, sondern in zwei Zeiten vornahm. Die Erklärung dafür könnte man darin sehen, daß nach Mischung der L_0 -Gabe mit dem Antitoxin nicht nur die darin enthaltenen Toxin-Toxoid-Bestandteile, sondern auch die Toxone allmählich so fest an das Antitoxin gebunden werden, daß nachträglicher Zusatz von Toxin die Toxonmoleküle nicht vollständig aus ihrer Bindung verdrängte. In diesem Falle sind in der L_0 -Gabe 159 Toxin- bzw. Toxoideinheiten und 41 Toxon-einheiten vorhanden, in der gewöhnlichen L_+ -Gabe ungefähr 206 Toxin-Toxoideinheiten und 54 Toxoneinheiten, bei der üblichen Feststellung des L_+ -Wertes müssen also 47 Toxin-Toxoideinheiten zu der L_0 -Gabe hinzutreten, um die 41 Toxone zu verdrängen. Bei der zweizeitigen Absättigung sind 0,11 ccm, d. h. 29,15 Toxin-Toxoideinheiten¹⁾

1) $\frac{x}{0,11} = \frac{159}{0,6}$, also $x = 29,15$.

weniger nötig, es bleiben also noch 29,15 von den 41 Toxoneinheiten in ihrer alten Bindung mit dem Antitoxin, d. h. 71%. Die Festigkeit der Bindung zwischen dem Toxon und Antitoxin steigt bemerkenswerterweise mit der Zeit. Dauert sie bloß 2 Stunden, so bleibt nur 39%, dauert sie dagegen 4×24 Stunden, so bleibt 78% des Toxons in seiner Bindung.

Schwieriger wird aber die Erklärung, wenn die Immunitätseinheit zunächst nicht mit der L_0 -Menge, sondern mit kleineren Giftmengen abgesättigt wird. Man erhält dann nach v. D u n g e r n durch 24 Stunden später erfolgenden Zusatz von weiterem Gift folgende Werte für L_+ :

T a f e l C.

1.	Bei vorher. Zusatz v. 0,6 ccm beträgt L_+ 0,67 ccm, d. h. 0,11 ccm weniger
2.	„ „ „ „ 0,5 „ „ „ L_+ 0,645 „ „ 0,135 „ „
3.	„ „ „ „ 0,35 „ „ „ L_+ 0,62 „ „ 0,16 „ „
4.	„ „ „ „ 0,2 „ „ „ L_+ 0,59 „ „ 0,19 „ „
5.	„ „ „ „ 0,15 „ „ „ L_+ 0,6 „ „ 0,18 „ „
6.	„ „ „ „ 0,1 „ „ „ L_+ 0,63 „ „ 0,15 „ „
7.	„ „ „ „ 0,05 „ „ „ L_+ 0,68 „ „ 0,10 „ „
8.	„ „ „ „ 0 „ „ „ L_+ 0,78 „ „ 0 „ „

Es bleibt also bei zweizeitiger Absättigung auch durch kleine Giftmengen ein Teil des Antitoxins dauernd in Beschlag gelegt, der bei gleichzeitiger Absättigung für die Neutralisierung neuen Giftes verfügbar würde. Woher kommen nun in diesen Fällen die Bindeeinheiten der Giftlösung, die das Antitoxin in Anspruch nehmen? An Toxon ist nicht zu denken, weil es in viel zu geringer Menge vorhanden ist. D u n g e r n glaubt dafür andere Stoffe mit geringerer Verwandtschaft zum Antitoxin, ganz ungiftige „Epitoxonoide“ verantwortlich machen zu müssen.

Sehen wir uns z. B. denjenigen Fall näher an, der die größte Menge Antitoxin beansprucht, nämlich die vorherige Absättigung mit 0,2 ccm Gift (Nr. 4 in Taf. C). Mischt man der Immunitätseinheit Serum zunächst 0,2 ccm zu, so werden dadurch 53 Toxin-Toxoideinheiten und 13,6 Toxoneinheiten und daneben noch eine Anzahl, sagen wir ζ Epitoxonoideinheiten von den überschüssigen 133,3 Bindeeinheiten des Antitoxins besetzt. Nach 24 Stunden Einwirkung genügt ein weiterer Zusatz von 0,39 ccm Gift, d. h. 0,19 ccm weniger als bei unmittelbarer Absättigung, um den L_+ -Wert zu erreichen. 0,19 ccm entsprechen 50,35 Toxin-Toxoideinheiten. Ebensoviel Toxon-Epitoxonoideinheiten bleiben also in ihrer Bindung mit dem Antitoxin. v. D u n g e r n rechnet, daß hier wieder 71% des vorhandenen Toxons, d. h. 9,73 Einheiten, festgebunden bleiben, dann würden

außerdem noch 40,63 Epitoxonoideinheiten ihre Bindung behalten. Wir wollen diese Annahme zunächst der Einfachheit halber zulassen. Auf dieselbe Weise erhält man für sämtliche Fälle folgende Werte:

Tafel D.

	Zur vorläufigen Ab- tügung dienende Gift- menge	Vielfaches von 0,05 ccm	Toxin-Toxoideinheiten	Toxoneinheiten	Festgebundene Toxon- einheiten 71%	Festgebundene Toxon- Epitoxonoideinheiten	Festgebundene Epi- toxonoideinheiten	Mindestmenge der Epi- toxonoide in Sp. 1	Nachträglich zugesetzte Giftmenge	In Sp. 9 enthaltene Toxin-Toxoideinheiten	Nicht an Toxin-Toxoid oder Toxon gebundene Bindeeinheiten d. Im- munsarums
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0,6 ccm	12	159	41	29,1	29,1	0	289,8	0,07	17,8	0
2	0,5 „	10	132,5	34,2	24,3	35,8	11,5	241,5	0,145	37,7	33,3
3	0,35 „	7	92,7	23,9	17,0	42,4	25,4	169,0	0,27	70,8	83,3
4	0,20 „	4	53	13,7	9,7	50,3	40,6	96,6	0,39	102,6	133,3
5	0,15 „	3	39,7	10,2	7,3	47,7	40,4	72,4	0,45	118,5	150,0
6	0,10 „	2	26,5	6,8	4,8	39,7	34,9	48,3	0,53	139,7	166,7
7	0,05 „	1	13,2	3,4	2,4	26,5	24,1	24,1	0,65	166,2	183,3

Die Zahlen der Tafel D sind meist ohne weiteres verständlich. Die Spalten 5 und 7 ergeben sich für die festen Bindungen der Toxone und Epitoxonoide unter der von v. D u n g e r n gemachten Voraussetzung, daß 71 % der Toxone festgebunden bleiben, wie es in Versuch 1 wirklich der Fall ist, Spalte 6 gibt die Summe von 5 und 7. In Spalte 8 habe ich die Epitoxonoidmengen berechnet, die mindestens in den zur ersten Ab-
sättigung dienenden Giftmengen vorhanden sein müssen: zugrunde gelegt ist die nach Versuch 7 festgebundene Epitoxonoidzahl, die man nur mit den Zahlen der Spalte 2 zu multiplizieren hat. Man sieht daraus, daß die Epitoxonoide in viel größerer Menge vertreten sein müssen, als die übrigen Giftbestandteile. Entspricht nun aber die hier angenommene Mindestmenge der Epitoxonoide der Wirklichkeit? v. D u n g e r n nimmt größere Mengen an, ohne sich weiter darüber auszulassen. In der Tat ist es, wie wir gleich sehen werden, wahrscheinlich, daß die wirklichen Epitoxonoidmengen etwa dreimal so groß sind, als in Taf. D angegeben. Setzen wir das vorläufig als richtig voraus, so hätten wir z. B. im Versuch 6 in der zunächst mit 0,1 ccm Gift abgesättigten Gift-Antitoxinmischung 26,5 Toxin-Toxoideinheiten, 6,8 Toxoneinheiten und 144,9 Epitoxonoideinheiten, es bleiben also $200 - 26,5 - 6,8 - 144,9 = 21,8$ Bindeeinheiten des Serums übrig. Setzt man 24 Stunden später 0,53 ccm Gift hinzu, so erhält man nach Taf. C eine Mischung, die gerade ein Meerschweinchen in vier Tagen zu töten vermag, d. h. den L_+ -Wert voll macht. In 0,35 ccm Gift sind nach Spalte 10 der Taf. D 139,7 Toxin-Toxoideinheiten enthalten. Diese sättigen zuerst die 21,8 freien Bindeeinheiten; der Rest von 117,9 Einheiten wird bestrebt sein, die $6,8 + 144,9 = 151,7$ Toxon-Epitoxinoid-einheiten aus ihrer ursprünglichen Bindung mit den Antitoxinen zu verdrängen. Die beiden miteinander reagierenden Mengen entsprechen dem

Verhältnis $\frac{117,9}{151,7} = \text{etwa } 78 \text{ } \%$. Aus Spalte 6 der Taf. D ersehen wir, daß in ihrer Bindung mit dem Antitoxin erhalten bleiben 39,7, also verdrängt werden $151,7 - 39,7 = 112$ oder $\frac{112}{151,7}$, d. h. $74 \text{ } \%$ der ursprünglich gebundenen Toxon-Epitoxonoidmenge. Es wäre nun wichtig, zu wissen, wieviel darunter Toxone und wieviel Epitoxonoide sind. Denkbar wäre es, daß die freien Toxin-Toxoideinheiten, solange genügend Epitoxonoidbindungen zur Verfügung stehen, diese zu sprengen versuchten und die Toxonbindungen unberührt ließen, dann verhielten sich die reagierenden Toxin-Toxoidmengen zu den ursprünglich gebundenen Epitoxonoidmengen wie $\frac{117,9}{144,9} = 81 \text{ } \%$ und die verdrängten Epitoxonoidmengen zu den ursprünglich gebundenen wie $\frac{144,9 - 39,7}{144,9} = 73 \text{ } \%$. v. D u n g e r n macht, wie wir gesehen, eine andere Voraussetzung, er nimmt an, daß die verfügbaren Toxin-Toxoideinheiten sowohl mit den Toxonen als mit den Epitoxonoiden reagieren, und zwar soll die Menge der festgebundenen Toxone konstant bleiben, nämlich $71 \text{ } \%$ betragen, wie im Versuch 1, S. 851. Es würden also verdrängt $29 \text{ } \%$ oder in unserem Falle 2,0 Toxon-einheiten, denn $\frac{2,0}{6,8} = 29 \text{ } \%$. Danach blieben 34,9 Epitoxonoide festgebunden und verdrängt würden $\frac{144,9 - 34,9}{144,9}$, d. h. $76 \text{ } \%$. Berechnen wir in derselben Weise die Verhältnisse, die sich in den übrigen Versuchen ergeben, so bekommen wir folgende Zahlen:

T a f e l E.

Nr des Versuchs	1	2	3		4		5		6		7		8
	Menge der zuerst zugesetzten Epitoxonoid-einheiten	Menge der ursprünglich gebundenen Epit.-Einheiten	reagierenden Toxin-Toxoid-Einheiten	verdrängten Toxon-Epit.-Einheiten	reagierenden Toxin-Toxoid-Einheiten	verdrängten Epitoxonoid-Einheiten	reagierenden Toxin-Toxoid-Einheiten	verdrängten Epitoxonoid-Einheiten	reagierenden Toxin-Toxoid-Einheiten	verdrängten Epitoxonoid-Einheiten	Toxone	Epitoxonoide	zu den ursprünglich gebundenen Toxon-Epitoxonoiden
1	869,9	0	44 %	29 %	—	—	29 %	—	29 %	—	29 %	—	—
2	724,5	33,3	56 „	47 „	113 %	95 %	29 „	67 %	29 „	67 %	29 „	67 %	67 %
3	507,0	83,3	66 „	60 „	85 „	78 „	29 „	70 „	29 „	70 „	29 „	70 „	70 „
4	289,8	133,3	70 „	66 „	77 „	72 „	29 „	70 „	29 „	70 „	29 „	70 „	70 „
5	217,2	150,0	74 „	70 „	79 „	75 „	29 „	72 „	29 „	72 „	29 „	72 „	72 „
6	144,9	144,9	78 „	74 „	81 „	73 „	29 „	76 „	29 „	76 „	29 „	76 „	76 „
7	72,3	72,3	73 „	65 „	76 „	63 „	29 „	67 „	29 „	67 „	29 „	67 „	67 „

Spalte 3 und 4 lehren uns, daß verhältnismäßig um so mehr Toxon-Epitoxonoid-einheiten aus ihrer früheren Bindung mit dem Antitoxin verdrängt werden, je mehr Toxin-Toxoideinheiten mit ihnen reagieren. Wir erfahren aber dadurch nichts über die Einzelheiten der Toxon- und Epitoxonoidverdrängung. Aus der Spalte 5 und 6, die auf unserer ersten

Annahme beruht, daß beim Vorhandensein von genügenden Mengen Epitoxonoidbindungen die neu zutretenden Toxin-Toxoidenheiten nur mit diesen und nicht mit den Toxonen reagieren, müßten wir den Schluß ziehen, daß um so mehr Epitoxonoide aus ihrer Bindung mit dem Antitoxin verdrängt werden, je größer verhältnismäßig die Zahl der Toxin-Toxoidenheiten ist, daß aber weder ein reichlicher noch ein geringer Zusatz der letzteren genügt, um gleiche Mengen von Epitoxonoiden aus ihrer Bindung freizumachen. Daraus würde zu folgern sein, daß es nicht möglich wäre, durch Verringerung der nachträglich zugesetzten Giftmengen einen Sättigungszustand zu erreichen, in dem die Gift-Antitoxinmischung keine freien Toxin- oder Toxoidmengen mehr enthielte, also ganz unschädlich für Tiere wäre. Nun wissen wir aber aus den Versuchen v. D u n g e r n s, daß man z. B. in Versuch 4 dann diesen Punkt — den L_0 -Wert — erreicht, wenn man nachträglich nicht 0,39, sondern nur 0,25 ccm Gift zusetzt. Man ist also wohl durch die Tatsachen gezwungen, die Voraussetzung, auf die sich die Zahlen der Spalten 5 und 6 der Taf. E gründen, fallen zu lassen. Ganz anders steht es mit der zweiten Annahme.

Überraschend einheitlich ist das Bild, das uns Spalte 7 und 8 bietet: wenn wir mit v. D u n g e r n die Voraussetzung machen, daß die Toxone stets in bestimmtem Verhältnis von den Toxinen aus ihrer Bindung mit den Antitoxinen befreit werden, so trifft dasselbe für die Epitoxonoide zu. Die Abweichungen, die sich in den Zahlen der Spalte 8 zeigen, sind so geringfügig, daß wir sie wohl auf die unvermeidlichen Versuchsfehler zurückführen dürfen. Wir können also den Satz aufstellen, daß 70 % der Epitoxonoide und 29 % der Toxone nur in lockerer, durch Zusatz von Toxin leicht zu trennender Verbindung mit dem Antitoxin stehen. Bemerkenswert ist, daß die Werte in Spalte 8 der Taf. E durchaus nicht so einheitlich ausfallen, wenn man die Epitoxonoidmenge (in Spalte 1) verringert oder vermehrt¹⁾. So werden die beiden Voraussetzungen, die wir gemacht haben, gleichzeitig bestätigt.

Es fragt sich, ob es möglich ist, auch eine Regel zu finden, die den Ersatz der einmal an Antitoxin gebundenen Epitoxonoide durch neu zutretende Toxone betrifft. Wir können dafür auf den eben angeführten Versuch v. D u n g e r n s zurückgehen. Sättigt man die Immunitätseinheit Diphtherieserum zunächst mit 0,2 ccm Gift ab (Versuch 4 in Taf. D), so verbinden sich außer 53 Toxin-Toxoidenheiten 13,7 Toxoneinheiten und 133,3 Epitoxonoidenheiten (Taf. E) mit Antitoxin. Fügt man nach 24 Stunden neue 0,25 ccm Giftlösung zu und spritzt sie Meerschweinchen ein, so ist sie ganz ungiftig, während 0,26 ccm schon eine leichte Erkrankung (Toxonwirkung) bedingen. 0,25 ccm enthalten nun 63,6 Toxin-Toxoidenheiten und 16,5 Toxoneinheiten. Nach der oben festgestellten Regel verdrängen die Toxin-Toxoidenheiten höchstens 29 % der Toxone und 70 % der Epitoxonoide, in unserem Falle 4 Toxone und 59,6 Epitoxonoide. Da, nach dem Ausfall des Tierversuches zu urteilen, keine freien Toxone

1) So lauten die Zahlen der Spalte 8, wenn man nur zwei Drittel der obigen Epitoxonoidmengen in der Giftlösung voraussetzt: 67, 70, 70, 72, 64, 45, wenn man fünfmal soviel annimmt: 67, 70, 70, 73, 79, 87. Die Zahlen in Spalte 2—6 derselben Tabelle verändern sich in diesen beiden Fällen nicht derart, daß man andere Schlüsse daraus ziehen könnte.

übrig bleiben, müssen die $4 + 16,5 = 20,5$ Toxoneinheiten ebensoviel Epitoxonoide in Freiheit setzen, d. h. von den noch übrig bleibenden $133,3 - 59,6 = 73,7$ Epitoxonoidbindungen 28 % lösen. Jeder noch so kleine Zusatz von Gift macht Toxone dauernd frei; wenn Toxone auf Epitoxonoid-Antitoxinbindungen wirken, würden sie also im besten Falle 28 % der Bindungen sprengen können. Natürlich ist das vorliegende Versuchsmaterial noch zu beschränkt, um alle diese Feststellungen als endgültige anzusehen, es würde zunächst nötig sein, die Untersuchungen v. Dungen's mit anderen Diphtheriegiftlösungen in erweitertem Maßstabe zu wiederholen.

Eine Erklärung für die Tatsache, daß die Verbindungen der Toxone und Epitoxonoide mit Antitoxin gegenüber neu zutretenden freien Toxinen (und Toxonen) nur eine relative, zahlenmäßig bestimmt begrenzte, dabei aber von der Zeitdauer der Bindung abhängige Festigkeit haben, besitzen wir vorläufig nicht. Ebenso wenig wissen wir etwas über einen etwaigen Ursprung der Epitoxonoide aus den Toxonen oder anderen Giftbestandteilen. Der unmittelbare Nachweis der Epitoxonoide durch Trennung von den übrigen Giftbestandteilen könnte vielleicht auf ähnliche Weise geliefert werden wie beim Toxon (S. 839). v. Dungen meint, die Möglichkeit der Immunisierung von Tieren mit Hilfe von Giftlösungen, die Antitoxin im Überschuß enthalten¹⁾, spreche für das Vorhandensein freier bindender Gruppen (der Epitoxonoide). Indessen ist das kein zwingender Grund, da man auch an eine Sprengung vorhandener Bindungen durch die lebenden Zellen oder an eine Verschiedenheit der immunisierenden und bindenden Gruppen, die unter Umständen die Betätigung der ersteren trotz Bindung der letzteren nicht hindert, denken könnte (vgl. § 278 u. 279)).

§ 266. Schlußbemerkungen über die Ehrlichsche Giftanalyse. Die in vorstehendem gegebene ausführliche Darstellung der Ansichten der Ehrlichschen Schule über den Bau der Diphtheriegifte ist von verschiedenen Seiten angefochten worden. Namentlich hat man versucht, die Ehrlichschen Vorstellungen, die mit den Fortschritten der tatsächlichen Kenntnisse immer verwickelter geworden sind, durch „einfachere“ zu ersetzen (Bordet, Arrhenius und Madsen u. a.). Wir kommen später auf diese Bemühungen zurück (§ 276 u. 277), wollen aber jetzt schon bemerken, daß es ihnen nicht gelungen ist, die Dinge so zufriedenstellend zu erklären, wie die Ehrlichschen Annahmen.

Diese Anerkennung schließt natürlich nicht aus, daß wir über die chemische Natur der Bestandteile des Diphtheriegiftes, über die Zusammensetzung der bindenden und toxischen Gruppen, über die materiellen Gründe der wechselnden Verwandtschaft der einzelnen Giftmodifikationen zu den Antitoxinen nach wie vor im Dunkeln sind.

1) Dreyer und Madsen, (Zeitschr. f. Hyg. 37. 257) immunisieren z. B. mit einer Mischung von 0,6 ccm (L_0) + $\frac{240}{200}$ Immunitätseinheiten.

Ehrlich selbst ist zugestandenermaßen bei seinen Annahmen ausgegangen von den Regeln, die für die Beziehungen zwischen den Eigenschaften der Farbstoffe und Arzneimittel und ihrem molekulären Bau gelten¹). Die Eignung eines Stoffes zum Farbstoff setzt zunächst voraus die Anwesenheit einer bestimmten ungesättigten Atomgruppe, der „chromophoren Gruppe“ (z. B. der Azogruppe $N = N$) in einem kohlenstoffreichen Molekül (meist einer zyklischen Verbindung). Diese Körper sind aber nur die Muttersubstanzen der Farbstoffe, die „Chromogene“ (z. B. Azobenzol), sie werden zu Farben erst durch den Eintritt von „Auxochromen“, d. h. von salzbildenden, wenn man will, „haptophoren“ Seitenketten, mit Hilfe deren sie an die Gewebe verankert werden. Solche sind die Hydroxylgruppe, die „saure“ Farbstoffe, z. B. Oxyazobenzol, und die Amidogruppe, die basische Farbstoffe, z. B. Amidoazobenzol, erzeugen. Je mehr dieser Gruppen im Molekül enthalten sind, desto größer wird die Basizität oder Azidität, d. h. das Bindungsvermögen, die „Echtheit“ der Farbe. Dazu können dann noch andere salzbildende Seitenketten (Karboxyl-, Sulfo-, Nitro-, Nitrosogruppen) kommen, oder Ersatz der Atome durch andere „indifferente“ Atomgruppen erfolgen, welche die Tiefe der Farbe sowie ihre Echtheit beeinflussen. Die Wirkungsweise braucht keine rein chemische zu sein; so macht Ehrlich darauf aufmerksam, daß die nerven- und fettfärbenden (neurotropen und lipotropen) Stoffe durch Einführung des Sulfosäurerestes die Fähigkeit, Gehirn und Fett zu färben, verlieren, aus dem einfachen Grunde, weil sie dann nicht mehr in Fetten löslich sind.

Auch die Wirkung der Arzneimittel²) wird in eigentümlicher Weise durch ihren chemischen Bau bestimmt, so hebt die Einführung von Säureresten die antipyretische Wirkung der Fiebermittel auf, so verdanken die Schlafmittel und andere die Nerven beeinflussenden Stoffe ihre Eigentümlichkeit vielfach der Anwesenheit von Äthylgruppen. Im Kokain stellt nach Ehrlich der Benzoylrest $CO \cdot C_6H_5$ die „anästhesiophore“, das im basischen Komplex enthaltene tertiäre Amin die „auxotoxe“ Gruppe vor.

Natürlich sind das alles nur Vergleiche, die mehr oder weniger hinken. So fehlt leider bei den Arzneimitteln und Farbstoffen bekannter Natur jede Analogie für die wichtigste Eigenschaft der Bakteriengifte (und übrigen Impfstoffe oder Antigene) — die Fähigkeit, zu immunisieren. Man wird darum den Antigenen entweder haptophore

1) Über die Beziehungen von chemischer Konstitution, Verteilung und pharmakologischer Wirkung. *Gesamm. Arb.* 1904. 584 (auch *Festschr. f. v. Leyden I*). Vgl. Pappenheim, *Grundriß der Farbchemie* 1901.

2) Vgl. S. Fränkel, *Arzneimittelsynthese*, 2. Aufl., 1906.

Gruppen eigentümlicher Art oder besondere immunisierende Gruppen zuschreiben müssen. Ihre Natur zu bestimmen, haben O b e r m e y e r und P i c k ¹⁾ in der Weise versucht, daß sie die als Impfstoffe für Präzipitine dienenden Eiweißsubstanzen — das Präzipitinogen (vgl. § 342) — verschiedenen chemischen Behandlungen, z. B. einer Nitrierung, Jodierung, Diazotierung unterwarfen und danach ihre immunisierende Fähigkeit untersuchten. Sie kamen so zu dem Schluß, daß die letztere wesentlich in den a r o m a t i s c h e n K e r n e n zu sitzen scheine. Natürlich gilt diese Feststellung zunächst nur für die geprüften Impfstoffe.

§ 267. Vorübergehende Veränderungen des Diphtherie- und anderer Impfgifte. Auf den Bau der giftigen Impfstoffe werfen auch ein gewisses Licht einige Erfahrungen über ihre Beeinflussung durch verschiedene Mittel²⁾. Daß Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd, Jod (in konzentrierter Lösung oder Jodtrichlorid), mäßige Hitzegrade, den elektrischen Strom nur die toxophoren, nicht die bindenden bzw. immunisierenden Gruppen zu schädigen braucht, war sehr lange aus den Immunisierungserfolgen bei Diphtherie und Tetanus bekannt und hat ja zur Aufstellung des Begriffes der Toxoide (§ 262) geführt. Starke Säuren, denen man früher vielfach eine weitergehende zerstörende Wirkung zugeschrieben hatte, verhalten sich anders. Neuerdings zeigte zunächst M o r g e n r o t h ³⁾, daß das Hämolysin und Neurotoxin des Kobragiftes unter dem Einfluß geringer Salzsäuremengen ihre Bindekraft für die Antitoxine verlieren und auch aus der fertigen Verbindung mit den Antitoxinen gelöst werden, aber ihre bindenden Eigenschaften wiedergewinnen, wenn die Säure nach nicht zu langer Einwirkung wieder abgestumpft wird. M o r g e n r o t h und P a n e ⁴⁾ machten dann weiter die Beobachtung, daß die Abschwächung der Giftigkeit des Kobragiftes, die durch längeres Aufbewahren in salzsaurer Lösung hervorgerufen wird, nach Neutralisierung im Laufe von Stunden und Tagen mehr oder weniger vollständig zurückgeht. Diese „Reversibilität“ oder besser gesagt Wiederherstellbarkeit der durch Säuren behandelten Gifte, über die übrigens schon R o u x und Y e r s i n für das Diphtheriegift, C h a n t e m e s s e für das Typhusgift und R i t c h i e für das Tetanusgift Angaben gemacht hatten, untersuchte D ö r r ⁵⁾ genauer für eine Reihe von Giften. Bei den Vibrio- und Staphylolysinen, dem Gift des Tetanus,

1) Wien. klin. Woch. 1906. 12.

2) Vgl. dazu auch § 274.

3) Berl. klin. Woch. 1905. 50 und Arbeit. a. Pathol. Institut Berlin 1906.

4) Biochem. Zeitschr. 1, 1906.

5) Wien. klin. Woch. 1907 und Biochem. Zeitschr. 7, 1907.

Rauschbrands und Vibrio El Tor wurde kein Erfolg erzielt, wohl bei Diphtherie-, Dysenterie- und Staphylotoxin. Alle **s t a r k e n** Säuren können anscheinend, auch in dünner Lösung und in kurzer Zeit, diese Wirkungen hervorbringen, schwache nicht. Einfache Neutralisierung genügt nicht, um den abschwächenden Einfluß der Säure aufzuheben und die Rückkehr der alten Eigenschaften einzuleiten. Nötig ist vielmehr Alkalisierung, daher bleibt die Abschwächung auch bei intravenöser, geschweige denn bei subkutaner Einspritzung erhalten und verschwindet erst, wenn man kurz vorher Sodalösung ins Blut einführt. Besser wirkt die Alkalisierung im Reagensglas, sie braucht aber nicht so lange Zeit zu dauern, wie im Falle des Schlangengifts. Längere (wochenlange) Behandlung mit Säuren entgiftet namentlich das Diphtheriegift endgültig. Die Prüfung der Bindekraft des bloß gesäuerten oder gesäuerten und wieder alkalisierten Diphtheriegiftes ergab, daß sie unter sich gleich und nur um ein Geringes kleiner war als die des unveränderten Giftes, während die Giftigkeit auch der alkalisierten Gifte immer noch erheblich hinter der des unveränderten zurückblieb. Die **h a p t o p h o r e n** Gruppen scheinen danach durch die Säure viel weniger angegriffen zu werden als die **t o x o p h o r e n** und die Reversibilität nur die letzteren zu betreffen, nicht wie beim Schlangengift auch die ersteren. Da die Säurewirkung bis zur völligen Zerstörung der Gifte fortschreitet, wird man sie sich als eine molekulare, aber bis zu einer gewissen Grenze zur freiwilligen Rückbildung geeignete Umlagerung, nicht einfach als Salzbildung vorstellen dürfen.

§ 268. **Die Eigengifte der Kleinwesen im allgemeinen.** Nachdem das Eigengift der Diphtheriebazillen nachgewiesen war, folgten viele ähnliche Untersuchungen über die Gifte der übrigen Mikroorganismen. Zum großen Teil waren sie auch von Erfolg gekrönt, d. h. es ist in vielen Fällen gelungen, aus den Bakterien Stoffe zu gewinnen, auf die man mit einer gewissen Berechtigung die Vergiftungserscheinungen zurückführen kann, die bei den natürlichen und künstlichen Bakterienkrankheiten beobachtet werden. Eine Ausnahme machen bisher namentlich noch gewisse Septizämieerreger, vor allem der Milzbrand (§ 292) und Schweinerotlauf (§ 293), ferner die durch „filtrierbare Virus“ (Chlamydozoen § 311) und fast ausnahmslos die durch die Protozoen verursachten Infektionen (§ 310). Die Erfolge wie die Mißerfolge können übrigens auch da, wo sie durch zahlreiche Versuche genügend sicher festgestellt sind, verschieden beurteilt werden. So haben wir bisher bei den Protozoen und Chlamydozoen vielleicht wesentlich aus dem Grunde, weil wir nur ausnahmsweise in der Lage sind, sie in Reinkulturen zu züchten, kein Glück

gehabt. Nicht ausgeschlossen ist es allerdings, daß da, wo wir bisher keine Gifte haben finden können, doch solche im Tierkörper durch bestimmte Umsetzungen der lebenden Substanz mit den Infektionserregern, die sich im Reagensglas bloß nicht nachweisen lassen, gebildet werden. Außerdem wäre es denkbar, daß örtliche Störungen, die ursprünglich nur durch die mechanische Wirkung der Erreger (Verstopfung von Kapillaren u. dgl.) bedingt werden, die Entwicklung von Selbstgiften im Körper oder wenigstens Schädigung der betreffenden Organe und damit Krankheit und Tod verursachen. Hier ist nicht der Ort, darauf genauer einzugehen (vgl. Infektionslehre). Es sei nur bemerkt, daß man früher wohl zu viel Wert auf die mechanischen Einflüsse an sich gelegt hat. Ebenso hat man früher den Einfluß des Stoffwechsels der Parasiten im Körper ihrer Wirte gewiß überschätzt, indem man z. B. annahm, daß sie mit dessen Zellen im Kampf um die Nahrung, z. B. den Sauerstoff, in erfolgreichem Wettbewerb träten. Selbst bei der reichlichsten Entwicklung der Parasiten bleibt ihre Masse gegenüber der der Wirte so zurück, daß von einer Nahrungsentziehung kaum die Rede sein kann, mindestens nicht bei den höheren Tieren. Bei niederen Wesen und den Pflanzen mag das zum Teil anders sein (vgl. § 51, S. 171 und § 329). Über die beschränkte Bedeutung giftiger Stoffwechselprodukte der Parasiten haben wir uns schon in § 258—260 ausgelassen¹⁾.

Umgekehrt ist man aber unseres Erachtens etwas zu sehr geneigt, die am Tier mit Bakteriengiften erhaltenen Erfolge zu überschätzen. Man hat meist angenommen, daß die an einzelnen, vielleicht durch besondere Giftigkeit ausgezeichneten Kulturen und an bestimmten besonders empfänglichen Tieren gemachten Erfahrungen sich ohne weiteres auf den Menschen bzw. auf die für die natürliche Infektion in Betracht kommenden Tiere übertragen ließen. In dieser Beziehung tut jedenfalls eine gründliche Durchsicht der bisherigen Annahmen not (vgl. namentlich Rauschbrand § 281, Dysenterie § 289, aber auch Cholera § 284 und Typhus § 286).

Die Giftigkeit der einzelnen Bakterien zeigt gewaltige Unterschiede. Ich habe für jede Art in der folgenden Tafel (S. 860) die-

1) Eine andere Erklärung suchen G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h für solche Fälle zu geben, in denen der Nachweis des Giftes im Stich läßt (Sitzungsber. d. Akad. Wiss. Wien. Math.-naturw. Kl. 114 Abt. III 133, 1905). Sie meinen, die Entziehung eines vielleicht nur in kleinen Mengen im Körper vorhandenen lebenswichtigen Stoffes durch die Bakterienwirkung könne die Krankheitserscheinungen, die wir als Vergiftung anzusehen pflegen, verursachen. Bestimmte Anhaltspunkte dafür liegen nicht vor (vgl. Rauschbrandgift § 283).

Vergleich der Giftstärke.

Mikrobenart	Versuchstier und Einverleibung	Verhältnis des Körpergewichts zum Gift	Benutztes Gift (Trockensubstanz ¹⁾)
Diphtherie	Meerschw. subk.	2 Mill.	Durch Fällung gereinigtes Bouillonfiltrat
Tetanus	„ „	1000 „	Gereinigtes Gift
Wurstgift (botulinus)	„ „	100 „	Bouillonfiltrat
Rauschbrand	„ „	300000	„
Cholera	Meerschw. intrap.	125000	Bakterienleiber
Typhus	„ „	100000	„
Dysenterie	Kanin. intrav.	3—100 Mill.	Auszug der Bakterienleiber
Pseudodysenterie	„ „	100000—1 „	Bakterienleiber
Enteritidis (Fleischgift)	Meerschw. intrap.	1500000	„
Influenza	„ „	100000	„
Schweinepest	„ „	100000	„
Schweineseuche	„ „	100000	„
Hühnercholera	„ „	80000	„
Wildseuche	„ „	30000	„
Pest	Ratten intrap.	400000 (?)	Frische Bazillen
„	„ „	200000	Alte Bouillonfiltrate
Milzbrand } Rotlauf }	Meerschw. u. Kaninchen }	1000 (?)	Bazillenleiber
Pneumokokken	Kaninch. intrav.	300—1000	Infiziertes Blut
Malignes Ödem	Meerschw. subk.	500	Bouillon
Streptokokken	„ „	100000	Bouillonfiltrat
Gonorrhoe	Meerschweinchen intrazer.	600000	Aszitesbouillon
Staphylokokken	Kanin. intrav.	3000	Alte Bouillonfiltrate
„	Meerschw. intrap.	30000	Alte Bakterienleiber
Pyocyaneus	„ „	10000	Bazillenleiber
„	„ „	300000	Alte Bouillonkultur
Proteus	Maus intrap.	15000	Bakterienleiber
Subtilis	Meerschw. intrap.	100000	„
Prodigiosus	„ „	300000	„
Tuberkulose	Meerschweinchen intrazer.	300000	T. O. (R. Koch)
„	Meerschw. intrap.	1500	
„	tub. Meerschw. ip.	150000	
Aktinomyces	Kanin. intrav.	5000	Nuklein

1) Als Trockensubstanz der Bouillon wurden gewöhnlich 2 ‰, des Serums 10 ‰, der Bakterien 20—25 ‰ angenommen.

jenige Gewichtsmenge der empfänglichen Versuchstiere in Gramm berechnet, die durch 1 g des Giftes akut, d. h. binnen 24 Stunden — oder wenigstens in einigen Tagen (Diphtherie, Tetanus) — bei der günstigsten Art¹⁾ der Einverleibung und der kräftigsten Beschaffenheit des Giftes (§ 271) gerade noch getötet wird. Dabei ist zu bedenken, daß alle diese „Gifte“ auch nicht annähernd reine Körper sondern im allgemeinen nur einen ganz kleinen Teil der zum Tierversuch dienenden Substanz darstellen. In Wirklichkeit ist die Giftigkeit also fast durchweg viel höher anzuschlagen. Um so überraschender sind die Zahlen, die wir in der Tabelle für das Tetanus- und Wurstgift (Botulotoxin) — beides übrigens von Bakterien stammend, die wenig oder gar keine eigentliche Infektiosität besitzen — finden: sind sie doch imstande, das 100—1000 millionenfache ihres Gewichts an Meerschweinchen zu töten. Auch das Kaninchengift der Ruhrbazillen kommt ihnen manchmal nahe. Die stärksten der chemisch bekannten Gifte (aus der Klasse der pflanzlichen Alkaloide), ferner Arsenik und Phosphor, sind ihnen nicht im entferntesten zu vergleichen: diese kommen höchstens dem Diphtherie- und manchem Ruhr- und Fleischgift, die im Verhältnis von 1:1—3 Millionen töten, einigermaßen nahe. In einigem Abstand, aber auch noch sehr kräftig (1:100 000 bis 300 000) wirken die Gifte der Pest-, Cholera-, Typhus-, Influenza-, Schweinepest-, Schweineseuchebazillen. Auf gleicher Stufe mit den genannten Infektionsgiften stehen bemerkenswerterweise wieder die des *Bac. pyocyaneus*, eines meist ganz harmlosen Schmarotzers menschlicher Wunden und des *Bac. prodigiosus*, der überhaupt noch niemals als Krankheitserreger im lebenden Tiere oder Menschen gefunden worden ist, vielmehr zu den gewöhnlichsten Bewohnern toter Stoffe, den sog. Saprophyten, gehört. Die Infektiosität, d. h. das Vermögen, im lebenden Körper zu wachsen, hat offenbar wenig oder nichts mit der Giftbildung zu tun (vgl. § 257). Dem entspricht ja auch die Tatsache, daß die sog. Septizämieerreger, die sich in ungeheuren Mengen im Tierkörper entwickeln, wie die Milzbrand- und Rotlaufbazillen, sehr wenig giftig sind.

§ 269. **Einfluß des Wirkungsortes und der Tierart auf die Giftigkeit.** Zu bedenken ist freilich bei der Beurteilung unserer Tafel, daß namentlich in gewissen Fällen der von uns angelegte Maßstab der Giftstärke ein willkürlicher ist. So würde man z. B. für das Gift der Tuberkelbazillen und Ruhrbazillen (bei Meerschweinchen) ganz andere Ergebnisse erhalten, wenn man nicht nur den schnellen,

1) Soweit Versuche vorliegen. Vgl. im übrigen § 269.

sondern auch den schleichenden Verlauf der Vergiftung berücksichtigte. Ferner sind oft Tierarten gewählt, die für die Gifte besonders empfänglich sind, aber unter natürlichen Bedingungen als Opfer einer Vergiftung schon deshalb nicht in Betracht kommen, weil sie für die betreffende Infektion gar nicht empfänglich sind. Wenn man imstande wäre, z. B. mit dem Ruhrgift am Menschen zu experimentieren, würde man wohl viel schwächere Wirkungen erhalten, als am Kaninchen (s. u.). Ebenso große Bedeutung hat sodann die Auswahl der zu prüfenden Stämme. Manche Ruhrbazillen z. B. — es scheinen das gerade die am wenigsten infektiösen zu sein — sind für die Kaninchen bis 100mal giftiger als andere (§ 289). Gewisse schnell tödliche Gifte der Cholera- und Typhusbazillen scheinen sogar nur ausnahmsweise vorzukommen (§ 271, 284, 286). Besonders wichtig ist ferner der Ort der Einverleibung des Giftes.

Zu den wenig giftigen Bakterien gehören die Gonokokken (§ 297) und Tuberkelbazillen (§ 304), wenn man ihre Produkte den Versuchstieren unter die Haut oder in das Bauchfell einbringt, sie werden aber 100—200mal, ja 1000mal giftiger bei Einspritzung in das Gehirn oder auch in das Blut. Ruhrbazillen sind für Affen unter der Haut fast ungiftig, im Blut sehr giftig (§ 284). Wir haben hier einige besondere ins Auge springende Beispiele für die Wichtigkeit der Einverleibungsart. Auch sonst tritt diese fast allenthalben hervor, doch nicht immer in demselben Maße und in derselben Richtung. Es gilt freilich die Regel, daß die Einspritzung in das Blut wirksamer ist als die in das Bauchfell und diese wirksamer als die unter die Haut¹⁾. Dafür scheint die Schnelligkeit der Aufsaugung maßgebend zu sein. So sah V o g e s ²⁾ Meerschweinchen von 300—400 g an dem Gift der Schweineseuche sterben, wenn er ihnen in das Bauchfell 8 mg, unter die Haut des Bauches 20 mg, unter die Haut des Rückens 50 bis 100 mg, in die Muskulatur der Beine 100—150 mg einführte. Aber abgesehen davon³⁾ ist der Ort der Einspritzung von Bedeutung, weil

1) Wenn es sich nicht darum handelt, die tödliche Giftgabe zu bestimmen, ist die s u b k u t a n e Einspritzung wohl den übrigen vorzuziehen. Mit ihrer Hilfe gelingt es noch z. B. beim Diphtheriegift mit dem 15. Teil der kleinsten tödlichen Menge örtliche Veränderungen zu erzeugen. Noch besser eignet sich dazu nach R ö m e r (Zeitschr. f. Immunitätsforschung 3. 208, 1909) die i n t r a k u t a n e Einführung. Durch sie werden noch mit dem 250. bis 500. Teil der tödlichen Gabe Reaktionen erzielt.

2) Zeitschr. f. Hyg. 23. 237, 1896.

3) Mit der ungleichen Aufsaugungsgeschwindigkeit hängt wohl auch die namentlich bei Endotoxinen oft gemachte Beobachtung zusammen, daß mit der K o n z e n t r a t i o n der Giftlösung bzw. in umgekehrtem Verhältnis zur Menge der einverleibten Flüssigkeit die Giftigkeit steigt.

die Organe ungleich stark für das Gift empfänglich sind. Bei den einzelnen Tierarten trifft man da häufig ganz verschiedene Verhältnisse. So wirkt das Tetanusgift beim Kaninchen in sehr viel kleinerer Menge, wenn es in das Gehirn, als wenn es unter die Haut gebracht wird, während beim Meerschweinchen kaum ein Unterschied besteht, und Ratten und Mäuse eher der subkutanen als der intrazerebralen Vergiftung erliegen¹⁾. Das Tetanusgift nimmt auch insofern eine Ausnahmestellung ein, als es im Blut schwächer wirkt als unter der Haut usw. und namentlich in der Muskulatur und den Nerven. Wahrscheinlich hängt das damit zusammen, daß dieses Gift eine eigentümliche Beziehung zum Nervensystem hat, nämlich in den Nervenbahnen von der Peripherie nach dem Zentrum zu wandert (vgl. § 281 und Infektionslehre). Dazu stimmt die große Empfänglichkeit des Zentralnervensystems für dieses Gift (s. o.). Auch das Gonokokkengift (s. o.) und das der Influenza (§ 302) hat viel kräftigere Wirkung, wenn man es in das Zentralnervensystem einbringt, nicht dagegen das Gift der Cholera-, Typhus-, Pyocyaneusbazillen und Staphylokokken. In jedem Falle sind übrigens bei derartigen Versuchen im Gehirn Kontrollversuche und ein besonders streng aseptisches Verfahren nötig. Die Erfahrung hat gelehrt, daß viele einfache chemische Körper, z. B. Salze, auf diesem Wege viel giftiger sind, als auf anderen (vgl. § 304).

Übereinstimmung besteht insofern für alle Eigengifte der Bakterien, als sie vom Verdauungskanal aus sehr viel schwächer oder gar nicht wirken. In vielen Fällen, so z. B. bei der Diphtherie und dem Tetanus, hat man auf diesem Wege überhaupt keine Vergiftung erzielen können, trotzdem man mit der 100—1000-, ja 100 000fachen Menge arbeitete. Schlangengift verhält sich ähnlich, während bekanntlich die meisten chemisch bekannten Gifte auch vom Magen und Darm aus sehr energisch wirken. Doch gibt es auch unter den Bakteriengiften einige, die eine Ausnahme von der allgemeinen Regel bilden, indem man, allerdings mit weit größeren Gaben als sonst, auch Vergiftung vom Darm erzielt, so das Gift des Bac. botulinus und einiger Bakterien aus der Paratyphusgruppe, ferner manche Pflanzengifte (Rizin). Offenbar hängen diese Verhältnisse mit dem Diffusionsvermögen, dem Angriffsvermögen für das Epithel und der Widerstandsfähigkeit der Gifte gegen die Verdauungssäfte zusammen²⁾.

Den größten Einfluß auf die Bestimmung der Giftigkeit hat, wie schon aus dem Gesagten erhellt, die Wahl des Versuchstiers.

1) Roux und Borrel, Annal. Pasteur 1898. 229.

2) Siehe Aufnahme von Giften durch den Darm in der Infektionslehre. Vgl. auch § 274, beim Choleragift § 284 und bei Organgiften § 318.

Wir werden später sehen, daß man beim Tetanusgift zahlenmäßig die verschiedene Giftempfindlichkeit der einzelnen Tierarten festgestellt hat. Mehr oder weniger gelten derartige Unterschiede auch bei den übrigen Giften, doch ist der Grad der Empfindlichkeit in jedem Falle ein besonderer, wechselnder, so ist das Meerschweinchen — immer im Verhältnis zum Körpergewicht betrachtet — für das Gift des Tetanus viel empfänglicher als das Kaninchen, für das der Diphtherie etwa gleich, für das der Dysenterie viel weniger empfänglich.

Neben der ungleichen Empfänglichkeit der Tierarten gibt es auch eine solche der Rassen und Individuen, die die Feststellung der tödlichen Mindestgabe recht erheblich erschweren kann (vgl. z. B. Diphtheriegift S. 843 Anm. 1).

§ 270. Wirkungsweise der Eigengifte. Inkubationszeit. Über die Art der Giftwirkungen, die durch die Bakterien bedingt werden, haben wir schon früher einiges gesagt (S. 795 ff.) und werden uns darüber genauer in den pathologischen Abschnitten dieses Werkes (Infektionslehre) auszulassen haben, hier, wo es sich wesentlich nur um die Unterscheidung der Gifte voneinander handelt, genügen wenige Bemerkungen. Von einer charakteristischen, leicht erkennbaren Wirkung können wir nur bei verhältnismäßig wenigen Giften, denen des Tetanus, der Diphtherie, des Botulismus, der Dysenterie, allenfalls der Influenza sprechen; die Vergiftungserscheinungen dagegen, die bei manchen Versuchstieren durch Cholera, Typhus, Paratyphus, Ruhr, *B. coli*, hämorrhagische Septikämie, *Bac. prodigiosus* usw. verursacht werden, zeigen vorläufig kaum irgendwelche Besonderheiten. Alle diese Gifte töten z. B. Meerschweinchen vom Bauchfell aus unter Temperaturverminderung und schnellem Körperversall binnen 10 bis 24 Stunden (sog. Cholerakollaps, „Endotoxin-“, „Proteinvergiftung“ § 280). Vorläufig sagen wir, denn es ist sehr möglich, daß die Verfeinerung unserer Beobachtungsmethoden, andere Auswahl von Tieren u. dgl. auch hier uns noch charakteristische Verschiedenheiten enthüllen wird. Die Versuche am gesunden Menschen müssen ihrer Natur nach begrenzt sein, sie haben uns bisher nicht viel gefördert. Eine Ausnahme macht bisher vielleicht nur der Versuch am t u b e r k u l ö s e n Menschen (und Tier), der für das Tuberkulinstudium von Bedeutung geworden ist. Auch er hat aber eigentlich nur quantitative, nicht qualitative Unterschiede in der Wirkung dieser Bakteriengifte ergeben. Die Beobachtungen, die am natürlich erkrankten Tier und Menschen während des Lebens und nach dem Tode gemacht wurden, sind natürlich für die Beurteilung der Giftwirkung von großem Werte, haben uns aber, gerade was die Unterscheidung der Gifte anlangt, nicht viel mehr gelehrt, als die Tierversuche, sie geben uns außerdem deswegen

häufig kein klares Bild der Vergiftung, weil beim natürlichen Verlauf der Infektion die Erreger an verschiedener Stelle, in ungleicher Menge, mit wechselnder Schnelligkeit ihre Giftwirkung entfalten. Es wäre von vornherein nicht ausgeschlossen, daß das so verschiedene Krankheitsbild der Cholera, des Typhus, der Ruhr nicht auf wesentlichen Unterschieden des Giftes selbst, sondern nur auf jenen Differenzen beruhte.

Sehr wichtig für die Kenntnis der Giftwirkungen ist natürlich das Verhalten der Gifte gegenüber den einzelnen Arten von Körperzellen und Geweben, das man bis zu einem gewissen Grade außerhalb des lebenden Körpers, im Reagensglas, studieren kann (s. o. S. 796). Die Bemühungen darum befinden sich noch im Anfangsstadium, sie haben auch vorläufig nur ergeben, daß diejenigen Bakterienstoffe, die z. B. rote und weiße Blutkörperchen schädigen (Hämolysine, Leukozidine), zu trennen sind von den allgemeinen Giften, die den schnellen Tod bewirken. Ob das gleiche von den sog. sekundären Giften, die Entzündung, Fieber, Ernährungsstörungen und den langsamen Tod durch Entkräftung verursachen (§ 280), steht dahin. Ebenso fragt es sich, ob wir besondere Herz-, Gefäß-, Nerven- und Hirngifte annehmen müssen (§ 318). Pharmakologisch genau untersucht bezüglich ihres Verhaltens zum Herzen, dem Gefäßsystem, der Atmung sind bisher nur wenige Gifte, so das Diphtheriegift, die Vibrionengifte, das Anaphylatoxin (vgl. Infektionslehre).

Seitdem man die Eigengifte der Bakterien kennt, hat man es als eine charakteristische Eigenschaft betrachtet, daß sie nicht unmittelbar nach ihrer Einverleibung wirken, sondern erst eine gewisse Zeit dazu brauchen. Diese „Latenz-“ oder „Inkubationszeit“ (Wartezeit) beträgt beim Tetanus-, Diphtherie-, Botulinus- und Dysenteriegift selbst bei den gewaltigsten Gaben eine ganze Reihe von Stunden. Aber nicht alle Eigengifte verlangen zu ihrer Wirkung eine Inkubationszeit. So tötet Staphylokokkengift Kaninchen vom Blutwege aus in einer Stunde, das der Bubonenpest Ratten und Mäuse auch binnen kürzester Zeit, das des *Vibrio Nasik* (§ 285) Kaninchen sogar binnen einiger Minuten. Auch der Choleravibrio bildet wenigstens nach *Metschnikoff* u. a. solche schnellwirkende Giftstoffe und beim Pneumoniekokkus (§ 294) haben *Kruse* und *Pansini*, beim Tuberkelbazillus de *Giaxa* ähnliches beobachtet. Das Schlangengift, das den Bakteriengiften in vielen Beziehungen an die Seite zu stellen ist, kann ebenfalls blitzartig töten. Umgekehrt gibt es chemisch bekannte Gifte wie das *Kolchizin*¹⁾, die auch eine Inkubationszeit brauchen. In dieser

1) Vgl. *Hausmann*, *Pflügers Archiv* 113. 317.

Beziehung läßt sich also eine strenge Scheidung der Eigengifte von den übrigen nicht durchführen (über Anaphylatoxin vgl. § 344).

§ 271. **Bildungsweise der Eigengifte.** Was die Absonderung bzw. Bildung der Bakteriengifte anlangt, so besitzt zwar jede einzelne Art von Mikroorganismen ihre besonderen, durch die Erfahrung festgestellten Eigenheiten. Indessen lassen sich gewisse allgemeine Regeln aufstellen. In erster Linie ist das Vermögen der Giftbildung nicht nur bei den Arten der Bakterien verschieden, sondern auch bei den **A b a r t e n** und **K u l t u r s t ä m m e n** ein wechselndes. Man kann sagen, daß es mindestens ebenso sehr, wenn nicht noch mehr der **A b ä n d e r u n g** unterworfen ist, als die meisten übrigen biochemischen Eigenschaften der Mikrobien. Mit der sog. Virulenz oder Infektiosität, d. h. der Fähigkeit, im lebenden Körper zu wachsen, mit anderen Worten, die Rolle eines „Parasiten“ zu spielen, hat die Giftigkeit, wie öfters gesagt (§ 51, 68, 257, 268), meist nichts zu tun¹⁾. So ist z. B. nach unseren Erfahrungen ganz regelmäßig die Giftigkeit der Ruhrbazillen für das Kaninchen am größten, für das Meerschweinchen weit geringer, die Infektiosität für letztere umgekehrt größer als für erstere; Stämme, die am meisten Kaninchengift bildeten, waren weniger infektiös für Meerschweinchen. Doch gilt dieser Gegensatz bloß für das sog. Kaninchengift der Ruhrbazillen (§ 289). Die Giftigkeit für das Meerschweinchen ging sogar in einigen Fällen parallel mit ihrer Infektiosität für dieses Tier. Es muß aber dahingestellt bleiben, wieweit Zufälligkeiten dies letztere Ergebnis herbeigeführt haben. Das trifft auch für die von mancher Seite gemachten Annahmen zu, daß Bakterien (z. B. die der Diphtherie und Pest) ihre Giftigkeit, indem sie durch empfängliche Tiere hindurchgehen, steigern. Eine allgemeine Erfahrung ist das keineswegs. So sind auch nach **G r a ß b e r g e r** und **S c h a t t e n f r o h** (§ 283) Giftigkeit und Virulenz beim Rauschbrandbazillus völlig getrennte Eigenschaften. Auch die neuesten Mitteilungen über schnellwirkende Toxine der Vibrionen, Cholera-, Typhus- und Paratyphusbazillen, Staphylokokken zeigen, daß für die Giftigkeit eines Bakterienstammes dessen angeborene, nicht von uns zu beeinflussende **E i g e n a r t** eine weit wichtigere Bedeutung hat als die Infektiosität. Man muß sich also einerseits zwar zur Giftdarstellung geeigneter Stämme bedienen, andererseits aber nicht vergessen, daß die gewonnenen Ergebnisse nicht allgemeingültig zu sein brauchen, d. h. das gefundene Gift unter natürlichen

1) Vgl. auch das bei den Aggressinen Gesagte (§ 321 ff.).

Verhältnissen wenig Bedeutung haben kann (s. o. S. 859).

Sehr viel hängt, was die Menge des gebildeten Giftes anlangt, von der Zusammensetzung des Nährbodens und den sonstigen Wachstumsbedingungen, z. B. der Temperatur und dem Sauerstoffzutritt, ab. Man wählt im allgemeinen die für das Wachstum günstigsten Verhältnisse. In den meisten Fällen ist man bisher mit den üblichen künstlichen Nährböden zum Ziel gekommen, doch gibt es Ausnahmen, der Pneumokokkus (§ 299) bildet z. B. nach den bisherigen Erfahrungen auf Bouillon etwa 20 mal weniger Gift, als in dem Blut der lebenden Versuchstiere. Es liegt nahe, die Säfte des lebenden Tiers durch die des toten, z. B. durch Blutsrum oder Organsäfte oder lebende Leukozyten, zu ersetzen, um stärkere Giftbildung hervorzurufen, man hat deshalb vielfach derartige Zusätze zu den Nährböden empfohlen. Der Augenschein lehrt dabei, daß ein Erfolg nicht immer einfach dadurch bedingt wird, daß das Wachstum der Bakterien ein besseres wird, sondern daß vielleicht gewisse Bestandteile in der Körpersubstanz vorhanden sein müssen, die in irgendeiner vorläufig unbekannten Weise gerade nur die Giftbildung unterstützen (vgl. Streptokokken § 295). Noch näher glaubte man den natürlichen Bedingungen der Giftbildung dadurch zu kommen, daß man die Mikroben in Zelloidin- oder Schilfsäckchen eingeschlossen innerhalb des lebenden Körpers (z. B. in der Bauchhöhle) züchtete¹⁾. Bisher ist wenig dabei herausgekommen. Natürlich sind die Bedingungen ja auch keineswegs dadurch geworden, da eben nicht alle Stoffe durch die Membranen hindurchgehen; die Aussichten der Giftgewinnung sind sogar insofern ungünstigere, als umgekehrt die gebildeten Gifte unter Umständen durch Diffusion nach außen verschwinden. Das macht sich sogar bei einer anscheinend noch natürlicheren Versuchsanordnung bemerkbar, wenn man nämlich die Mikroben wachsen läßt in serösen Höhlen und dann das Exsudat auf Gifte verarbeitet. Bei der Besprechung der natürlichen oder tierischen „Aggressine“ wird davon die Rede sein, daß diese Exsudate keineswegs so regelmäßig, wie man annehmen sollte, giftig wirken (§ 321). Indessen glaubt man in anderen Fällen doch auf solchem Wege besondere Gifte erhalten zu haben (vgl. Typhus, Milzbrand u. a. m.). Auch das Blut (s. o.) und die Absonderungen infizierter Tiere hat man öfters in ähnlicher Weise zur Giftgewinnung benutzt, aber die Verhältnisse liegen hier auch nicht so günstig, wie

1) Lit. bei de Waele und Sugg Zentr. Bakt. 42. 636, vgl. im übrigen bei Cholera- und anderen Giften.

es auf den ersten Blick scheint, weil die Gifte von den Organen schnell gebunden und nur mangelhaft ausgeschieden zu werden pflegen (vgl. Infektionslehre und § 274).

Die Vorschriften, die bezüglich der Zusammensetzung der künstlichen Nährboden gemacht worden sind, gelten immer nur für bestimmte Bakterien. So ist ein **P e p t o n g e h a l t** der Bouillon für die Giftbildung der meisten Bakterien sehr förderlich, nach der Ansicht **C h r i s t m a s'** bei den Gonokokken nur hinderlich (§ 297). Zucker hemmt bei vielen Mikroorganismen die Giftentwicklung (s. o. Diphtherie S. 828), begünstigt sie aber bei anderen (Rauschbrand). Das gleiche gilt für die **T e m p e r a t u r**: die meisten Bakterien verlangen die Temperatur der Warmblüter, der *Bac. botulinus* und *pestis bubonicae* eher Zimmertemperatur. Im übrigen haben wir schon bei dem Diphtheriegift gesehen, daß man auf verschiedenen Wegen zum Ziele gelangen kann, und daß nicht selten die erprobtesten Anordnungen zu Mißerfolgen führen, ja daß sogar von einer Reihe unter ganz gleichen Bedingungen angelegter Kulturgefäße das eine viel, das andere wenig Gift erzeugt.

Über den Chemismus und Mechanismus der Giftbildung können wir ebensowenig etwas Sicheres aussagen, wie über den der Fermente bzw. Enzyme (§ 68, 250). Wunderbar ist das ja nicht, da wir schon ihre chemische Natur nicht kennen (vgl. aber das Anaphylatoxin § 344).

§ 272. Gewinnungsweise der Eigengifte. Ekto- und Endotoxine. Die Verfahren, durch die man aus den fertigen Kulturen das Gift gewinnt, sind, um es mit einem Worte zu sagen, etwa dieselben, die wir schon bei der Darstellung der Fermente kennengelernt haben (§ 240). Bei den Bazillen der Diphtherie, des Tetanus, Botulismus, Rauschbrands, den Staphylo- und Gonokokken, zum Teil auch bei den Ruhrbazillen hat man die Erfahrung gemacht, daß ältere flüssige Kulturen, die schon längst den Höhepunkt ihres Wachstums überschritten haben, das stärkste Gift liefern, und daß man es in den keimfrei durch Porzellan, Kieselgur oder auch bloß mehrfach durch Papier filtrierten oder ausgeschleuderten oder freiwillig abgesetzten Kulturen wiederfindet. Umgekehrt gewinnt man beim Cholera-, Typhus-, Paratyphus, Schweinepest- und -Septizämie-, Influenzabazillus usw., nach unserer Erfahrung auch bei den Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen das kräftigste Gift aus jungen Kulturen, und zwar aus den **L e i b e r n** selbst. Man kratzt dabei die Bakterien vom festen Nährboden ab oder entnimmt sie aus dem flüssigen durch Abheben der etwa gebildeten Decken. Abfiltern oder Ausschleudern, tötet sie durch scharfes Trocknen.

Temperaturen von 55—120°, durch mechanische Zertrümmerung (s. u.), durch (nicht zu eingreifende) chemische Mittel wie Chloroform, 0,5% Karbolsäure, Toluol, Glyzerin, Alkalien und verwendet die Aufschwemmungen der Leiber als solche, oder entzieht ihnen die wirksamen Stoffe durch dieselben oder andere physikalische und chemische Mittel¹⁾. Schon das 1—2stündige Erhitzen in Kochsalzlösung bei 55—65° und nachfolgendes Zentrifugieren setzt uns z. B. in Besitz sehr kräftiger Ruhr-, Typhus- und Choleragiftlösungen; Ausziehen mit 0,5prozentiger Kalilauge und Niederschlagen mit Essigsäure ergab **L u s t i g** und **G a l e o t t i** zuerst bei Pestbazillen, dann bei allen möglichen Bakterien giftige „Nukleoproteide“ (s. u. § 273); tagelanges **S c h ü t t e l n** in destilliertem Wasser oder anderen Flüssigkeiten (vgl. Angriffstoffe § 320), Verreiben der feuchten Bakterien mit Glaspulver, Sand oder Kieselgur (**H. B u c h n e r** und **H a h n**), Verreiben der trockenen Bakterien in einem Mörser (**R. K o c h**, vgl. Tuberkelbazillen § 304) oder einer Kugelmühle (**L a u t e n s c h l ä g e r**) oder der feuchten und gefrorenen bei der Temperatur der flüssigen Luft in dem von **M a c f a d y e n** und **R o w l a n d** angegebenen Apparat eröffnet die Leiber und ermöglicht die Gewinnung des Saftes durch Auspressen der „Plasmine“ unter hohem Druck (wie bei der Zymase § 89), Ausziehen mit Wasser (s. Staphylokokken § 248), ganz schwachen Alkalien (**M a c f a d y e n**) u. dgl.²⁾. Auch die Autolyse ist dazu seit **C o n r a d i** öfter angewendet worden, ist aber bedenklicher, weil die Verdauung die Gifte, besonders wenn sie lange einwirkt, angreift oder auch erst giftige Zerfallstoffe erzeugt (vgl. Pestgift). Das gleiche gilt wohl von der Behandlung mit alkalischem Alkohol (**Coligift V a u g h a n s** § 288) oder Blutserum (**Anaphylatoxin F r i e d b e r g e r s** § 344).

Je nachdem man die Gifte auf die eine oder andere Weise gewinnt, bezeichnet man sie als **S e k r e t g i f t e**, **E k t o t o x i n e** (auch eigentliche Toxine) und als **L e i b e s g i f t e** oder **E n d o t o x i n e**, ähnlich wie man die Ektofermente den Endofermenten gegenüberstellt (§ 240). Was die Berechtigung dazu anlangt, so verweisen wir auf das an letzter Stelle Gesagte. Man kann die Scheidung in praktischer Beziehung für zweckmäßig halten, ohne doch von dem wissenschaftlichen Wert der Trennung überzeugt zu sein (s. auch S. 791).

1) Fast sämtliche Methoden sind beim Cholera- und Typhusbazillus (§ 284 und 286), zum großen Teil auch schon beim Diphtheriebazillus (§ 261) angewandt worden. S. dort die Literatur. Praktisch wichtige Einzelheiten, namentlich die Immungifte betreffend, s. auch im Handb. von **K r a u s** und **L e v a d i t i** 1. Band bei **P i c k**.

2) Vgl. die Äthylaminmethode **A r o n s o n s** beim Diphtheriegift (S. 830).

Wenn man nämlich die Begriffe so auffaßt, wie es seit R. P f e i f f e r s Untersuchungen über das Choleragift (§ 284) gewöhnlich geschieht, daß nämlich die Ektotoxine echte Absonderungen der lebenden Mikroben, die Endotoxine Leibesbestandteile derselben seien, die erst durch Absterben oder Abtöten in Freiheit gesetzt werden, oder wenn man mit O p p e n h e i m e r u. a. gar die Ektotoxine als immunisierende, die Endotoxine als nicht immunisierende Gifte, die einen als hitzeempfindlich, die anderen als hitzebeständig definiert, kommt man sofort in die Brüche¹⁾. Wir gehen auf die Immunisierungsfähigkeit (§ 275) und die Widerstandsfähigkeit der Gifte (§ 274) später noch genauer ein.

Daß die Auffassung der Ektotoxine als echter Sekrete lebender Zellen auf Schwierigkeiten stößt, daß wir vielmehr auch hier ebensogut von einem Freiwerden der Gifte beim Absterben der Bakterien sprechen können, haben wir schon bei Gelegenheit des Diphtheriegifts (S. 829 ff.) gesehen. Auch bei den meisten anderen Sekretgiften ist es wohl nicht anders, wie schon die Tatsache bezeugt, daß sie gewöhnlich erst aus älteren Kulturen in genügender Menge erhalten werden. Am klarsten sind aber die Verhältnisse bei dem Dysenteriebazillus. Man erhält das gleiche für Kaninchen tödliche Gift durch beide der obigen Verfahren. Dadurch wird bewiesen, daß das in der Bouillon wegen des langsamen Wachstums nur allmählich gebildete und beim Absterben der Bazillen ebenso allmählich in sie ausgeschiedene Gift von vornherein in den Leibern der jungen Agarkulturen, die schon nach 24 Stunden den Höhepunkt ihrer Entwicklung erreicht haben, vorhanden ist, also zwischen Endo- und Ektotoxin kein Gegensatz besteht, vielleicht alle Eigengifte der Bakterien als Endotoxine in dem Pfeifferschen Sinne bezeichnet werden könnten, und ein Unterschied nur insofern hervortritt, als das Gift mehr oder weniger fest am Leibe der Bakterien haftet. Es brauchte ja nun freilich nicht immer so zu sein. Denn es wäre möglich, daß einerseits die Giftbildung mit dem Wachstum der Bakterien und andererseits die Ausscheidung der Gifte aus den Bakterien mit dem Absterben nicht gleichen Schritt hielte. Die bei den Filtratgiften der Staphylokokken und namentlich bei dem Hämolysin (und Leukozidin) der meisten Bakterien (§ 312) gewonnenen Erfahrungen sprechen dafür, daß diese giftigen Stoffe ursprünglich nicht fertig gebildet in den jungen Leibern der Bakterien vorhanden sind. Gerade hier könnte man am ehesten

1) Vgl. die Verhandlung über Endotoxine in der 2. Tagung des Vereins für Mikrobiologie. Zentr. Bakt. Ref. 42. Bd. Beiheft.

darán denken, daß diese Gifte wie viele Enzyme nur in gewissen Zeiten ihres Lebens von den Zellen gebildet und abgesondert würden. In manchen Fällen scheinen die das Gift liefernden Bestandteile durch den längeren Aufenthalt in den Bakterienleibern oder der Lösung geschädigt zu werden. In anderen Fällen wird das Gift aber vielleicht gerade durch Zersetzungs Vorgänge, wie wir sie ja in geschädigten Zellen so häufig eintreten sehen (Selbstverdauung) verstärkt oder überhaupt erst aus den unschädlichen Muttersubstanzen entwickelt (Pest ? § 291). Meist dient freilich die Selbstverdauung dazu, die Endotoxine aus den Leibern zu befreien und schädigt sie bei längerer Einwirkung.

Daß die Ausscheidung der Bestandteile der Bakterienleiber mit ungleicher Schnelligkeit und Leichtigkeit erfolgt, wird schon durch die verschiedene Zusammensetzung der letzteren wahrscheinlich gemacht. Der Fettgehalt und die dichte Beschaffenheit der säurefesten Bazillen (§ 19) wird ebenso wie die feste Struktur der grampositiven (§ 18) den Vorgang verlangsamen, es wird also hier eingreifender Mittel bedürfen, um das Gift in Freiheit zu setzen.

Die E m p f i n d l i c h k e i t d e r G i f t e (§ 274) spielt bei allen diesen Vorgängen wohl sicher keine geringe Rolle. Nach L ü b b e r t ist sie bei den giftigen Heubazillen der Milch (§ 301) so groß, daß man das Gift überhaupt noch nicht in löslichem oder unlöslichem Zustand hat gewinnen, sondern sein Vorhandensein nur durch Versuche mit den lebenden Bakterien hat nachweisen können. Bei seinen Studien über das Choleragift kam R. P f e i f f e r ferner zu dem Schluß, es gäbe ein gegen alle Angriffe sehr empfindliches, um ein Vielfaches stärkeres „primäres“ und ein widerstandsfähigeres, aber schwächeres „sekundäres“ Leibesgift. Wir werden sehen, daß sich diese Unterscheidung gerade für die Cholera nicht in dem ursprünglichen Sinne aufrecht erhalten läßt, immerhin ist sicher, daß man z. B. durch Kochen viele, wenn nicht alle gelösten Gifte in ihrer Wirkung abschwächen, andererseits aber aus den Bakterienleibern durch längeres Kochen immer wieder neue Giftstoffe ausziehen kann. In welcher Beziehung diese kochfesten Gifte zu den ursprünglichen stehen, ist nicht ganz sicher, der Name „sekundäre“ Gifte also vielleicht nicht gerechtfertigt. Immerhin mag man ihn, um eine Bezeichnung zu haben, beibehalten, wenn man nicht mit Buchner von „Bakterienproteinen“, mit Centanni von Fiebergiften, „Pyrotoxinen“ sprechen will oder aber den Namen Leibesgifte (Endotoxine) nicht ausschließlich auf die kochfesten, schwer aus den Leibern freizumachenden Gifte beschränken will (vgl. § 280).

Nicht nur primäre und sekundäre Gifte hat man übrigens bei einem

und demselben Bakterium zu unterscheiden, sondern auch stets im Auge zu behalten, daß man es möglicherweise mit einer Vielheit von Giften zu tun hat. Man hat verschiedene Mittel, um das zu beweisen. So bildet z. B. die ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen Temperaturen von 50—60° ein Mittel, das blutkörperlösende Tetanolysin (§ 312) und das krampferzeugende Tetanospasmin (§ 281) zu unterscheiden (vgl. § 274). Ebenso glaubt man Ursache zu haben, von dem eigentlichen allgemeinen Gift der Staphylokokken (§ 298) das blutkörperlösende Staphylolysin (§ 312) und das Leukozyten tötende Leukozidin (§ 317) trennen zu müssen. Ihre Scheidung voneinander scheint manchmal erst durch die Benutzung der Immunisierungsverfahren (s. u.), andere Male durch den Vergleich der Wirkungen von Giftlösungen, die von verschiedenen Nährböden, oder in demselben Nährboden zu verschiedenen Zeiten, oder von verschiedenen Stämmen derselben Art gewonnen sind (vgl. Tetanolysin, Staphylolysin), möglich zu sein. Weiter hat man bei den Pest-, Typhus-, Cholera-bazillen, Vibrionen Gifte gefunden, die sich schon durch ihre kurze Inkubationszeit (§ 270) von den gewöhnlichen unterscheiden. Von den „Toxonen“ haben wir schon bei Gelegenheit des Diphtheriegifts gesprochen (§ 263). Bei ihnen wurde, abgesehen von anderen Dingen, die das Verhalten zum Tierkörper und Immunserum betreffen, die mehr oder weniger ausgesprochene Filtrierbarkeit zu seiner Trennung benutzt. Übrigens ist dieses Merkmal nur mit Vorsicht zu benutzen, da der ungleiche Schleim- und Eiweißgehalt der Giftlösungen hierauf Einfluß hat (vgl. *Pyocyaneus* § 299, *Gonokokken* § 297). Immerhin macht es den Eindruck, als ob die weit verbreitete Ansicht, daß alle gelösten Bakteriengifte auch filtrierbar sein müßten, nicht den Tatsachen entspräche. In manchen Fällen ist es besser, um das Gift frei von Bakterien zu erhalten, entweder — bis zur Klarheit der Lösung — auszuschleudern oder durch Fließpapier mit oder ohne Zusatz von Talk u. dgl. zu filtrieren, als die eigentlichen Bakterienfilter zu benutzen. Unterschiede an Durchlässigkeit bestehen ganz sicher zwischen den einzelnen Filterarten, am durchlässigsten sind einige Kieselgursorten¹⁾. Schon die älteren Filtrerversuche haben ferner gelehrt, daß im Anfange des Filtrierens die Gifte oft in den Poren zurückgehalten werden und erst in den späteren Anteilen hindurchgehen. Hin und wieder ist es möglich, auch die ungleiche Absorbierbarkeit durch andere Stoffe zur Trennung der Gifte zu benutzen, so weiß man, daß einzelne Nervengifte (Tetanus, Botu-

1) Über die Eigenschaften der verschiedenen Filter vgl. namentlich *R o s e n t h a l*, Zeitschr. f. Hyg. 60, 1908.

lismus) durch Hirn und Rückenmark, die Hämolyse durch rote Blutkörperchen (§ 274), die immunisierenden Gifte durch ihre Antitoxine gebunden werden. Schließlich ist die Fähigkeit zu immunisieren selbst ein Merkmal vieler Gifte, so fast aller Sekretgifte, aber auch einiger Leibesgifte (z. B. der Dysenterie). Wir kommen im § 275 auf diese „Impfgifte“ zurück.

§ 273. **Reinigung der Eigengifte. Chemische Natur.** Durch einen Teil der eben angegebenen Verfahren sind uns sichere Mittel an die Hand gegeben, dem Ziele der Reindarstellung der Gifte näherzukommen. Im übrigen gelten dafür die Methoden, die wir schon bei Gelegenheit der Enzymdarstellung (§ 240) kennen gelernt haben. Die Schwierigkeiten, denen wir hier und dort begegnen, sind die gleichen. Man wird vor allem erwarten müssen, in diesen Giftlösungen stets mehr oder weniger große Mengen von Eiweißkörpern, namentlich Albumosen und Peptone zu finden. Von den ersten Forschern, die sich mit der Darstellung der Gifte beschäftigten, Brieger und Fränkel (vgl. S. 824), ist dieser Punkt nicht genügend berücksichtigt worden, sie glaubten, als sie aus den Kulturfiltraten der Diphtheriebazillen, dann aber auch der Typhus-, Tetanus-, Cholera-bakterien und Staphylokokken und aus den Auszügen von Milzbrandorganen durch Fällung mit Alkohol oder Ammonsulfat giftige Stoffe erhielten, die eigentlichen Gifte vor sich zu haben und nannten sie, weil sie sich wie Eiweißkörper verhielten, Toxalbumine. Die weitere Entwicklung der Frage haben wir schon bei Besprechung des Diphtheriegiftes behandelt (S. 825 ff.).

In erster Linie gebührt Brieger selbst und seinen Mitarbeitern das Verdienst, nachgewiesen zu haben, daß, je mehr die Bakteriengifte von anhaftenden Unreinlichkeiten gereinigt werden, sie desto mehr den Charakter von Eiweißkörpern verlieren. Einigermaßen scheint diese Reinigung bei dem Diphtherie-, Tetanus- und Botulinusgift, sowie einem Pflanzengift, dem Rizin, geglückt zu sein, bei den ersteren hauptsächlich durch Darstellung der Zinkdoppelsalze, bei den letzteren durch Ausfällung und Verdauung mit Trypsin. Die Trypsinverdauung läßt sich bei den Bakteriengiften im allgemeinen nicht anwenden, weil sie sie viel zu stark schädigt, ja oft völlig vernichtet (s. u.). Man könnte daraus trotz Fehlens der übrigen Reaktionen auf die Eiweißnatur der Gifte schließen, wenn man wüßte, ob wirklich das Trypsin oder andere noch unbekannte Bestandteile des Pankreassaftes den schädigenden Einfluß ausüben. Macht man aber die Voraussetzung, es handele sich hier um eine Hydrolyse durch Trypsin, so findet man darin nur eine Bestätigung der von vornherein wahrscheinlichen Ver-

mutung, daß die Bakteriengifte zum mindesten verwickelter gebaut sind, wie die Aminosäuren, etwa in ihrer Zusammensetzung Polypeptiden, vielleicht verbunden mit anderen „spezifischen“ Bestandteilen, entsprächen. Auch die Polypeptide geben ja nicht immer die bekannten Eiweißreaktionen. Umgekehrt ist ein ähnlicher Bau aber auch bei den übrigen nicht durch Trypsin zerstörbaren Giften nicht ausgeschlossen, weil es Polypeptide gibt, die dem Trypsin widerstehen¹⁾.

Für die übrigen Bakteriengifte liegen so gründliche Untersuchungen noch nicht vor, man hat aber wohl das Recht, die „Nukleoproteide“, die *Lustig* und *Galeotti* aus allen möglichen Bakterien darstellten, die „Toxalbumosen“, „Toxoglobuline“, „Toxopectone“, „Toxomuzine“ usw. der Autoren (s. u. Cholera, Tuberkulose) mit einigem Mißtrauen zu betrachten. Diese Benennungen besagen wahrscheinlich nichts mehr, als daß die betreffenden Giftstoffe noch nicht genügend von den durch die Fällungsmittel gleichzeitig niedergeschlagenen Albumosen, Globulinen usw. befreit worden sind. Möglich wäre es freilich auch, daß die Gifte nicht bloß mechanisch, sondern auch chemisch — als Seitenketten (§ 68) — mit eiweißartigen Substanzen ursprünglich verbunden wären²⁾ und sich mehr oder weniger von ihnen trennen ließen.

Ob die von *Ruppel* aus den Tuberkelbazillen dargestellte „Tuberkulinsäure“, „Tuberkulosamin“ usw. (§ 304 und § 25 S. 68) eine Ausnahme bilden, d. h. leidlich reine Körper sind, mag dahingestellt bleiben. Wahrscheinlich ist es gerade nicht, wirken sie doch trotz ihrer chemischen Unterschiede gar zu ähnlich.

Vielleicht erklärt sich die Giftigkeit der alkoholischen, Äther- und Chloroformauszüge mancher Bakterien und Pilze (§ 260) auch nur aus bloßen Beimengungen giftiger Substanzen und läßt keine Schlüsse auf die Natur der letzteren zu.

Wenn auch die Bakteriengifte keine echten Eiweißkörper sind, so gilt doch von ihnen wie von den Enzymen, daß sie verwickelt gebaute Körper sind, die mehr oder weniger schwer (S. 840) diffundieren und gegen chemische und thermische Eingriffe häufig sehr empfindlich sind (§ 274). Die Elementarzusammensetzung weicht bei den möglichst gereinigten Giften nicht wesentlich von der des Eiweißes ab (s. Tetanusgift § 281).

Obwohl die oben genannten Darstellungsmethoden, namentlich die Fällung mit Alkohol oder Ammonsulfat, keine reinen Gifte ergeben, werden sie dennoch vielfach gebraucht, um die Gifte in verdichteter, trockener und deshalb haltbarer Form zu gewinnen. Das-

1) Über die Auffassung des Anaphylatoxins als Verdauungsprodukt des Eiweißes vgl. § 344.

2) Vgl. *Fermi* und *Pernossi*, Zeitschr. f. Hyg. 16. 423, 1894.

selbe Ziel erreicht man häufig auch dadurch, daß man die Giftlösungen bis zur Trockne eindampft. Gewöhnlich ist es nötig, um das Gift nicht zu zerstören, bei niedriger Temperatur (25—35°) — am besten im luftleeren Raum — zu arbeiten (§ 261). Das trockene Gift behält am ehesten seine Wirksamkeit, wenn man es mit Ehrlich unter Abschluß von Sauerstoff und Feuchtigkeit — im luftleer gemachten U-Röhrchen, dessen einer Schenkel mit Phosphorsäure beschickt ist — aufbewahrt (vgl. Tetanusgift).

Die Vorstellungen über den verwickelten Bau der Immungifte, zu denen man durch das Studium ihrer Beziehungen zu den Antitoxinen gekommen ist, haben wir schon beim Diphtheriegift besprochen und werden weiter unten noch Ergänzungen dazu bringen (§ 275).

§ 274. Giftzerstörende und giftbindende Einflüsse. Schon bei der Darstellung der Gifte (§ 272) haben wir von ihrem ungleichen Verhalten gegen Temperaturen gesprochen und hervorgehoben, daß gerade die stärksten Gifte wie die Enzyme dagegen recht empfindlich sind, indem schon weit unter 100° gelegene Temperaturen sie zerstören. Für jedes Gift gelten bestimmte Temperaturen; am niedrigsten liegt die Grenze für das Tetanolysin, das schon durch 20 Minuten lange Erhitzung auf 50° seine Wirkung einbüßt, am höchsten für die Endotoxine, von denen manche (Tuberkulin), für die mit ihnen verwandten sekundären Gifte (§ 280), die sämtlich die Siedehitze vertragen, aber auch für ein wiederholt dargestelltes Choleraektotoxin. Die hitzebeständigen Gifte brauchen nicht der Fähigkeit, Immunkörper zu erzeugen (§ 275), zu ermangeln. Bekanntlich verhalten sich auch Schlangengifte ähnlich. Auch unter den Endotoxinen kommen übrigens solche vor, die von höheren Temperaturen z. B. von 70—80° (vgl. Ruhrgift) vernichtet werden. In getrocknetem Zustand vertragen auch die empfindlichsten Gifte, wie die Enzyme, die Erhitzung selbst über 100° viel besser.

Wenn höhere Temperaturen bei genügend langer Einwirkung für die meisten Gifte, namentlich für die Immuntoxine, schädlich sind, so ist damit nicht gesagt, daß sie bei niederen Temperaturen unbegrenzt haltbar seien. Das ist sogar bei den kochfesten Giften nicht immer der Fall. So verlieren Tuberkulin- und andere Giftlösungen im verdünnten Zustande auch bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich schnell ihre Wirksamkeit. Die Immungifte gehen dabei zum Teil in ungiftige „Toxoide“ (§ 262 und 275) über. Brutschranktemperaturen vermindern, sehr niedrige Temperaturen, sowie auch manchmal Zusätze von Karbolsäure, Toluol, Glyzerin, Neutralsalzen (s. u.) erhöhen die Haltbarkeit. Die Möglichkeit, die Gifte in völlig trockenem

Zustande und bei Sauerstoffabschluß lange Zeit aufzubewahren, wurde schon oben erwähnt.

Das Licht (vgl. § 45 u. 245) schädigt die Bakteriengifte wie die Fermente. So wird Tetanusgift nach Kitasato¹⁾, Fermi und Pernossi²⁾ durch volles Sonnenlicht bei 37° in etwa 15 Stunden zerstört, freilich auch wieder nur in feuchtem Zustande. Unter dem Einfluß des Lichtes werden manche (fluoreszierenden) Farbstoffe, die an sich unschädlich sind, für ihre Gifte gefährlich. So geht die Giftigkeit des Diphtheriegifts nach Jodlbauer und Tappeiner³⁾ in Berührung mit Eosin durch dreitägige Belichtung auf weniger als den hundertsten Teil zurück. Sogar innerhalb des lebenden Körpers soll sich dieser Einfluß bei vergifteten Meerschweinchen wohltätig bemerkbar machen. Ebenfalls vernichtet der elektrische Strom das Tetanus- und Diphtheriegift (Fermi und Pernossi, Marmier⁴⁾), doch nur der kontinuierliche Strom z. B. von 4 Bunsenelementen, nicht der hochgespannte Wechselstrom. Wahrscheinlich treten hierbei chemische Wirkungen (des Chlors und der unterchlorigen Säure) ins Spiel (vgl. § 45).

Die Haltbarkeit der Gifte in ihren eigenen Bakterienkulturen ist keineswegs unbegrenzt, im Gegenteil pflegen sie ihre höchste Wirksamkeit, die sie früher oder später (s. o. S. 830) erreichen, nicht beizubehalten. Teils Säure-, teils Alkalibildung, teils vielleicht auch Fermenteinwirkungen (Selbstverdauung) werden wohl dabei mitspielen. Fremde Bakterien, die in den Giftlösungen wachsen, brauchen sie nicht zu zerstören (Fermi und Pernossi). Nach Metschnikoff⁵⁾, Garnier und Sabaréanu⁶⁾ soll allerdings der Typhusbazillus das Diphtheriegift zerstören, das Tetanusgift aber verstärken, der Milzbrandbazillus die umgekehrte Wirkung ausüben. Wodurch, steht dahin. Auch Darmbakterien sollen nach Carrière (s. u.) das Tetanusgift abschwächen. Die Pyocyanease, ein aus Pyocyaneuskulturen hergestellter Stoff (§ 7 u. 8), hat nach Emmerich und Löw⁷⁾ ebenfalls eine gewisse entgiftende Wirkung auf Diphtheriegift. Ob dabei dessen lipoidartige (s. u.) oder andere Bestandteile beteiligt sind, wäre noch auszumachen.

Von sonstigen zerstörenden Einflüssen seien zunächst genannt die Verdauungsflüssigkeiten, vor allem der Pankreassaft,

1) Zeitschr. f. Hyg. 10, 1891.

2) Ebenda 16, 1894.

3) Münch. med. Woch. 1904. 737.

4) Annal. Pasteur 1896 mit Lit.

5) Annal. Pasteur 1897. 802.

6) Arch. méd. expér. 1904.

7) Zeitschr. f. Hyg. 31. 50, 1899

dessen außerordentlich kräftige Wirkungen N e n c k i, S i e b e r und S c h o u m o f f, C a r r i è r e ¹⁾, D ö r r u. a. für Diphtherie-, Tetanus-, Dysenterie- und Vibrionengifte festgestellt haben. Speichel und Darmsaft haben eine viel geringere Wirkung, Magensaft eine starke, die er aber ganz wesentlich seinem S ä u r e g e h a l t (vgl. § 267) verdankt. Das Wurstgift (Botulotoxin § 282), Fleischgifte (§ 287), manche Hämolysine, Tuberkulin und die Endotoxine bzw. sekundären Bakteriengifte (§ 280) sind dagegen mehr oder weniger widerstandsfähig gegen die Verdauung. Darauf beruht wiederum zum Teil das ungleiche Verhalten der Gifte bei Verfütterung. Einzelheiten darüber bringen wir in der Infektionslehre. Dort werden wir auch die giftwidrigen bzw. -bindenden Eigenschaften anderer Körperbestandteile, so der G a l l e, der E p i t h e l i e n, L e u k o z y t e n und G e f ä ß e n d o t h e l i e n des Unterhaut-²⁾ und Nervengewebes, der Leber- und anderen Organauszüge, des Blutes normaler und immunisierter Tiere behandeln. Diese Wirkungen sind je nach den Giften verschieden und noch keineswegs vollständig aufgeklärt. In vielen Fällen, so namentlich im I m m u n s e r u m, werden besondere Gegengifte (Antitoxine) in Anspruch genommen. Sie interessieren uns in diesem Teile unseres Werkes nur so weit, als sie ein Licht werfen auf den Bau der Immungifte (§ 275). Außerdem hat man aber, gestützt auf Versuche, eine sehr energische Giftwirkung durch G e w e b s - o x y d a s e n (S i e b e r ³⁾), durch Autolyse entstandene Gewebsstoffe (B l u m ⁴⁾) angenommen, ferner N u k l e i n e und andere Eiweißkörper, namentlich aber Fette und andere Lipoide (Cholestearin, Lezithin ⁵⁾, Protagon ⁶⁾) als entgiftend erkannt. Wir halten es für sehr wahrscheinlich, daß auch die von W a s s e r m a n n und T a k a k i ⁷⁾, sowie R a n s o m ⁸⁾ zuerst beobachtete sog. anti-toxische Kraft des Z e n t r a l n e r v e n s y s t e m s gegenüber dem

1) Annal. Pasteur 1899 Lit.

2) S. auch beim Diphtherie- (S. 841) und Ruhrgift (§ 289).

3) Zeitschr. physiol. Chem. 32, 1901.

4) Hofmeisters Beitr. 5, 1904.

5) K e m p n e r und S c h e p i l e w s k i, Zeitschr. f. Hyg. 27, 1898 (Botulismusgift). Die Lezithinverbindung des Kobragifts (Lezithid, K y e s) hat wohl keine Analogie unter den Mikrobengiften. Sie stellt erst das eigentliche Gift vor, das aus dem Zusammentreten eines ungiftigen, in der Schlange gelieferten (ambozeptorartigen) Körpers mit dem Lezithin entsteht. Vgl. übrigens das Anaphylatoxin Friedbergers § 344.

6) L a n d s t e i n e r und v. E i s l e r Zentr. Bakt. 39. 318, 1905; L a n d s t e i n e r und B o t t e r i ebenda 42. 563, 1906 (Tetanusgift).

7) Berl. klin. Woch. 1898. 1.; vgl. K o l l e - W a s s e r m a n n s Handb. 4. 467, 1904.

8) Bei B e h r i n g, Berl. klin. Woch. 1898. 5.

Tetanusgift, die von mancher Seite immer noch als besondere Stütze der Ehrlichschen Seitenkettentheorie angesehen wird, auf derartigen nicht spezifischen Wirkungen beruht¹⁾. Außer für Tetanus- und Botulinusgift sind derartige Lipoidleistungen namentlich für hämolytische Gifte nicht bakterieller (Schlangengift, Saponin) und bakterieller Natur²⁾ (Tetanolysin, Vibriolysin) festgestellt, während Diphtherie-, Dysenteriegift und Staphylolysin wenig oder gar nicht beeinflußt werden.

Daß auch andere, nicht dem Tier entstammende Körper von verschiedenster Zusammensetzung entgiftende Einflüsse ausüben können, hat z. B. von Lingelsheim³⁾ gezeigt, indem er Diphtherie- und Tetanusgiftlösungen durch einige Tropfen Karragheenschleim, und zwar das letztere zum Teil auf die Dauer unschädlich machen konnte. Längst bekannt ist ferner schon seit den Forschungen von Roux und Yersin über das Diphtheriegift (S. 824), daß man durch feinverteilte anorganische Körper, wie den Niederschlag von Kalziumphosphat und Aluminiumhydroxyd, Diphtheriegift binden kann. Ähnliche Erfahrungen machten bei Tetanusgift Brieger mit Tierkohle (§ 281), Stoudensky⁴⁾ mit Karmin. Biltz, Much und Siebert⁵⁾ bei verschiedenen Giften mit Eisenhydroxyd. Die Bindung war hier zum Teil so fest, daß man das Gift weder durch den Tier- noch durch den Reagensglasversuch in dem bindenden Körper nachweisen konnte.

Zur Erklärung der Bindungsfähigkeit aller dieser Stoffe hat man teils die „Adsorption“ oder „Oberflächenanziehung“, teils die „Absorption“ oder „feste Lösung“ herbeigezogen⁶⁾ und im Anschluß daran auch die Bindung der Gifte an die oben genannten organischen Kolloide einschließlich der spezifischen Antitoxine als ähnliche „physikalische“ oder besser physikalisch-chemische Vorgänge zu deuten versucht. Soweit die Beziehungen zwischen Toxinen und Antitoxinen in Frage kommen, scheint uns das gegenüber den anschaulichen chemischen Vorstellungen Ehrlichs (§ 262) keinen Fortschritt zu bedeuten (§ 276 u. 277), im übrigen aber beachtenswert zu sein. Die kolloidale Natur

1) In der Infektions- und Immunitätslehre näheres. Vgl. Metschnikoff, Annal. Pasteur 1898, 33; Marie ebenda 1898. 92; Danysz ebenda 1899; Marie und Morax ebenda 1902. 820; Dmitriewski ebenda 1903. 151; Besredka ebenda 1903. 140.

2) P. Th. Müller, Zentr. Bakt. 34, 1903; Landsteiner und v. Eisler (s. o.), Pribram, Kolle-Wassermanns Handb. Erg.-Bd. 1. 297, 1906.

3) Zeitschr. f. Hyg. 42, 316, 1903.

4) Annal. Pasteur 1899.

5) Behrings Beitr. exper. Therap. 10, 1905.

6) Über Absorption im Filter s. o. S. 872.

der Gifte wie der sie bindenden Stoffe legt ja diese Auffassung von vornherein sehr nahe. Dies entbindet uns aber nicht von der Verpflichtung, das ungleiche Verhalten der einzelnen Infektionsgifte auch gegenüber den nicht spezifischen Kolloiden, das aus allen bisherigen Erfahrungen hervorgeht, zu beachten. Auch die sog. Kolloidchemie gibt uns dafür bisher keine Erklärung.

Nach neueren Mitteilungen P r i b r a m s ¹⁾ würden dagegen die Toxine mit gewissen, die Lösungsverhältnisse beeinflussenden kristalloiden Stoffen in ähnlicher Weise reagieren, wie andere kolloide. So sollen alle (anorganischen) Neutralsalze von zwei- oder mehrwertigen Metallen, ferner die wasserlöslichen Narkotika, Nervina und Anästhetika (Urethan, Kokain, Atropin, Chinin, Morphinum, Philokarpin) die Gifte zerstören oder wenigstens abschwächen, die einwertigen Metallsalze und ungiftigen Alkaloide aber nicht. Die Versuche wurden freilich bisher vorwiegend an Tetanusgift angestellt. Sie erinnern uns an ältere Erfahrungen H. B u c h n e r s ²⁾ über den Einfluß der Neutralsalze. Danach sollen Natriumsulfat, weniger gut Kochsalz (nicht aber Salpeter) Tetanus- und Diphtheriegift geradezu konservieren. Wenigstens schützen sie es einigermaßen gegen die schädlichen Einwirkungen hoher Temperaturen, z. B. einstündiger Erhitzung auf 55°. K n o r r ³⁾ machte allerdings die Beobachtung, daß Zusatz von 2—10% Kochsalz zum Tetanusgift zwar seine Haltbarkeit bei gewöhnlicher Temperatur erhöhe, sie aber gegen hohe Temperaturen herabsetze.

Über den zunächst nur vorübergehenden entgiftenden Einfluß der Säuren haben wir schon früher (§ 267) gesprochen, ferner die schädliche Wirkung der Eiweißfällungsmittel, wie z. B. des Alkohols, bei der Darstellung der Gifte (S. 825), die zum Teil eher nützliche der Antiseptika soeben erwähnt. Die von Behring entdeckte abschwächende Wirkung des Jodtrichlorids, der Lugolschen Lösung und anderer Stoffe, wie des Goldnatriumchlorids, Chlorzinks, mancher Farbstoffe (B u c h n e r, S t i l l i n g, F l e x n e r und N o g u c h i u. a.) usw. hat man zu Immunisierungs- und Heilzwecken öfters benutzt (vgl. Immunitätslehre).

Wasserstoffsuperoxyd zerstört das Tetanusgift, und zwar nach Löwenstein (s. u. § 278) sogar, wenn es schon mit Antitoxin in Verbindung getreten ist.

1) K o l l e - W a s s e r m a n n s Handb. 2. Erg.-Bd. S. 288, 1909.

2) Arch. f. Hyg. 17. 164, 1893.

3) Experim. Untersuchungen über Grenzen der Heilungsmöglichkeit des Tetanus. Marburg. Habil. 1895.

§ 275. **Bau der Impfgifte (Immuntoxine).** Wir haben schon S. 792 gesehen, daß eine Reihe von Giften die Eigentümlichkeit besitzt, im Tierkörper bei wiederholter Behandlung eine Art Giftfestigkeit hervorzurufen, und daß diese „Giftimmunität“ oft Hand in Hand geht mit der Bildung von Gegengiften (Antitoxinen) im Blutserum der betreffenden Tiere. Zu den Impfgiften oder Immuntoxinen gehören außer dem von uns schon ausführlich behandelten Diphtheriegift (§ 262 ff.) auch die beiden Gifte des Tetanusbazillus, das Tetanospasmin und Tetanolysin, das des Bac. botulinus, Rauschbrands, das Kaninchengift und vielleicht auch das Meerschweinchengift des Dysenteriebazillus, drei Gifte des Staphylococcus pyogenes (Staphylotoxin, Lysin, Leukozidin), das allgemeine und das hämolytische Gift des Pyocyaneus und außer anderen Bakterienhämolysinen (§ 313) auch noch einige neuerlich beschriebene allgemeine Gifte von Vibrionen, Typhus-, Paratyphusbazillen, um von anderen weniger anerkannten nicht zu reden.

Außerdem sind aber hinzuzuzählen pflanzliche und tierische Gifte¹⁾, wie Rizin, Abrin, Robin, Aal-, Spinnen-, Schlangengift usw., angeblich auch das Heufiebergift und die Hämolysine und Bakteriolyse der Immunsera. Die übrigen Gifte, vor allem die große Masse der chemisch bekannten, sind dagegen nicht imstande, zu immunisieren bzw. Gegengifte, die ins Blutserum übergehen, zu bilden²⁾. Im großen und ganzen sind die Impfgifte und ihre Gegengifte spezifisch, d. h. nur die ihrem Ursprung nach miteinander zusammenhängenden passen zueinander, neutralisieren, binden sich. Einige Ausnahmen, die zum Teil noch zweifelhaft sind, ändern nichts an dieser Regel (vgl. Immunitätslehre). Von mancher Seite³⁾ ist der Versuch gemacht worden, die Impfgifte noch durch andere Merkmale von den übrigen Giften zu trennen. Sie sollen stets Sekretgifte (Ekto-toxine), nicht Leibesgifte (Endotoxine), ferner besonders empfindlich z. B. gegen Erhitzung und Verdauung sein, für ihre Wirkung im Tier auch eine Inkubationszeit verlangen. Doch haben alle diese Regeln Ausnahmen. So vertragen das Botulismusgift und das Rizin die Verdauung, das Schlangengift und das Typhusimmungift die

1) Vgl. darüber in Kraus' und Levaditis Handbuch.

2) Die Angaben über die Möglichkeit, echte Immunität bzw. Antitoxin gegen chemische bekannte Gifte zu erzeugen, haben sich regelmäßig als unrichtig erwiesen. Neuerdings behauptet aber wieder Ford (Journ. inf. diseases 1906 und 1907), daß die giftigen Glykoside von Amanita phalloides antitoxische Immunität hervorrufen.

3) Vgl. namentlich Oppenheimer, Toxine und Antitoxine, 1904. Über die Beschränkung des Ausdrucks „Toxine“ auf die Immuntoxine s. o. S. 792 Anm.

Siedehitze. Die Wartezeit ist bei vielen Vibrionen- und Schlangengiften nicht vorhanden. Das Dysenteriegift kann man ebenso gut als Leibesgift wie als Sekretgift bezeichnen usw. Selbst die Bindefähigkeit scheint keine den Immungiften allein zukommende Eigenschaft zu sein, wenigstens nicht gegenüber den Geweben (S. 796 ff.); nur durch ihr Verhältnis zum spezifischen Antitoxin des Immunserums und durch die Fähigkeit, ihren bindenden (haptophoren) Gruppen die Zellen, in denen sie verankert sind, zur Antitoxinbildung zu veranlassen¹⁾, sind sie ausgezeichnet und verdienen sie die Benennung als „Bindegifte“. Schon beim Diphtheriegift (S. 833) haben wir auseinandergesetzt, daß die Bindung des Giftes mit seinem Antitoxin nach dem „Gesetz der Multipla“, d. h. proportional der in Reaktion tretenden Menge des Giftes erfolgt, was Ehrlich durch das Vorhandensein je einer zueinander passenden haptophoren Gruppe im Toxin- und Antitoxinmolekül erklärt.

Wir kommen später auf einige Erfahrungen zurück, die zu dieser Regel nicht stimmen sollen (§ 276 u. 278), halten aber vorläufig daran fest, weil sie nicht nur im Falle des Diphtheriegiftes, sondern auch sonst den Tatsachen im allgemeinen gerecht wird.

Beim Diphtheriegifte haben wir ferner ausführlich die Vorstellungen besprochen, zu denen Ehrlich und seine Mitarbeiter beim Studium der Beziehungen zwischen Gift und Antitoxin gekommen sind. Sie unterscheiden das stark wirksame Toxin, dessen „toxophore“ (giftige) Gruppe unverändert ist, von den weniger bzw. gar nicht wirksamen **Toxoiden**, bei denen sie eine Abschwächung bzw. Zerstörung erlitten hat, das **Toxon**, bei dem die toxophore Gruppe eine andere Art Giftwirkung (chronische Lähmungen, Schwellungen usw.) auslöst, wie das Toxin (akuter Tod, Nekrose usw.) und schließlich die ungiftigen **Epitoxonoide**. Die bindende Gruppe ist bei Toxin, Toxoid, Toxon und Epitoxonoid gleich gebildet, so daß sie in die Antitoxinbindegruppe hineinpaßt, besitzt aber ungleiche Verwandtschaft („Avidität“) zu ihr: am stärksten ist sie beim Prototoxin (-toxoid), dann folgen das Deutero- und Tritotoxin (-toxoid) und schließlich das Toxon und Epitoxonoid (§ 262—265).

Ist es erlaubt, diese Vorstellungen auf die übrigen Immungifte zu übertragen und hier auch Toxoide, Toxone usw. anzunehmen? Die Erfahrung, daß Abschwächungen bei allen diesen Giften unter den natürlichen Verhältnissen sehr regelmäßig beobachtet werden, und daß sie durch künstliche Eingriffe, wie z. B. Erhitzung, ferner durch

1) Über diese von Ehrlich angenommene Identität der bindenden und immunisierenden Gruppen der Impfgifte vgl. § 279.

Chemikalien hervorgerufen werden können, ohne daß das Vermögen, Antitoxine zu bilden und zu binden, dabei verloren geht, spricht allerdings bei den meisten Impfgiften für das Vorkommen ungiftiger, aber doch noch bindender Giftbestandteile, die man zu den Toxoiden stellen könnte, und auch sonst lassen sich viele Analogien zwischen Diphtherie- und anderen Giften feststellen.

So fand *Behring*¹⁾, daß von frischem *Tetanusgift* (*Tetanospasmin*) mehr tödliche Gaben (Gifteinheiten) zur völligen Neutralisierung einer feststehenden Antitoxinmenge (Antitoxin- oder Immunitätseinheit²⁾) nötig sind, als von einem abgelagerten oder durch Jodtrichlorid abgeschwächten Gift. *Behring* und sein Mitarbeiter *Knorr*, denen wir die wichtigsten Untersuchungen über das Tetanusgift verdanken, drücken diese Erscheinung auch so aus, daß der „direkte“ (am Tier bestimmte) Giftwert einer Tetanusgiftlösung, wenn sie nicht frisch ist, größer sei als der „indirekte“ (mit Hilfe von Antitoxin bestimmte) Giftwert. *Knorr*³⁾ bestätigte ferner bei demselben Gift den „*Ehrlichschen Versuch*“ (S. 838), indem er fand, daß zu dem Übergang von dem L_0 -Wert — dem Punkte vollständiger Sättigung des Giftes durch Antitoxin — zu dem L_+ -Wert — dem Giftüberschuß, der gerade die tödliche Wirkung herbeiführt — viel mehr als eine einfache tödliche Gabe nötig ist. Das würde auf das Vorhandensein von Toxonen im Tetanuskrampfgift schließen lassen. *Morgenroth*⁴⁾ kam zu derselben Folgerung, indem er nach *Ehrlichs Methode* der teilweisen Absättigung (S. 841) das Giftspektrum des Tetanospasmins zu entwerfen suchte. Die Prüfung gestaltete sich allerdings schwieriger als beim Diphtheriegift, weil sich die notwendige Grundlage, die Gifteinheit, beim Tetanus nicht mit der gleichen Sicherheit bestimmen ließ. *Madsen*⁵⁾ hat auf demselben Wege für das hämolytische Gift der Tetanusbazillen, das *Tetanolysin*, ebenfalls ganz ähnliche Bauverhältnisse aufgedeckt, wie *Ehrlich* für das Diph-

1) Fortschritte der Medizin 1899. 501.

2) Da das Antitoxin im allgemeinen besser haltbar ist als das Toxin, geht man gewöhnlich von diesem ersteren aus und stellt es auf ein besonders starkes Gift ein- für allemal ein. Nach der für die Diphtheriegiftmessung gültigen Bezeichnungsweise entspricht eine *Ehrliche* Immunitätseinheit (IE) 100 einfachen tödlichen Gaben eines Mustergiftes. *Behring* und *Knorr* (Zeitschr. f. Hyg. 13, 1893) gehen beim Tetanus von einer Antitoxineinheit aus, die so bemessen ist, daß sie eine für Tötung von 40 000 000 g Mäusen in 3—4 Tagen ausreichende Giftmenge neutralisiert.

3) Münch. med. Woch. 1898. 11/12.

4) Archiv. internat. pharmacodyn. 1900.

5) Zeitschr. f. Hyg. 32, 1899.

theriegift. Statt des Tierversuches diene ihm als Probe auf die Wirkung des Giftes die Lösung einer bestimmten Menge von Blutkörpern im Reagensglas (§ 312). M a d s e n unterscheidet auch beim Tetanolysin ein Prototoxin, das durch Umwandlung in Prototoxoid leicht seine blutlösende Wirksamkeit, aber nicht seine Bindungsfähigkeit einbüßt, das verhältnismäßig widerstandsfähigere Deuterotoxin und das Tritotoxin, das zum größten Teil in Toxoid verwandelt ist, und schließlich das sehr wenig giftige Toxon. H. S a c h s ¹⁾ hat endlich den „D a n y s z s c h e n Versuch“ (S. 849) beim Tetanolysin nachgeprüft und konnte zwar die Existenz von Toxonen mit Sicherheit nachweisen, aber nicht die von Epitoxonoiden.

Zum Unterschied vom Diphtherie- und Tetanusgift zeigt das „Giftspektrum“ des S t a p h o l y s i n s (§ 312) nach N e i ß e r und W e c h s b e r g ²⁾ größere Schwankungen, indem mehrfach ganz unwirksame Strecken (Toxoide) mit wirksamen abwechseln. Das Ende des Spektrums nimmt auch hier das Toxon ein, das nur noch imstande ist, die empfindlichsten roten Blutkörper des Kaninchens zu lösen. Die Menge der Toxoide ließ sich durch Erwärmen der Giftlösung künstlich vermehren, ohne daß die Bindungsfähigkeit für Antitoxin dadurch herabgesetzt wurde. Daß auch das Staphylolysin Epitoxonoide enthält, machte S a c h s ³⁾ dadurch wahrscheinlich, daß er den D a n y s z s c h e n Versuch mit Erfolg auch in diesem Fall wiederholte. V o l k und L i p s c h ü t z ⁴⁾ fanden im V i b r i o l y s i n wenigstens Toxoide.

Die Toxoide und Epitoxonoide⁵⁾ der Bakteriengifte finden übrigens weitere Analogien beim Rizin, Schlangen- und Spinnengift, in den Komplementoiden, Agglutinoiden usw. des Blutserums (vgl. Immunitätslehre), sowie in später zu besprechenden Bestandteilen anderer bakteriellen Impfstoffe (vgl. Kap. XVII).

Das R a u s c h b r a n d g i f t zeichnet sich nach G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h ⁶⁾ dadurch aus, daß es weder im frischen

1) Berl. klin. Woch. 1904. 16.

2) Zeitschr. f. Hyg. 36, 1901.

3) Zentr. Bakt. 37. 251.

4) Wien. klin. Woch. 1903. 1398, vgl. K r a u s und L i p s c h ü t z , Zeitschr. f. Hyg. 46. 62.

5) Wenn L e v a d i t i (Annal. Pasteur 1905. 8) gegen die Annahme der Epitoxonoide geltend macht, daß die D a n y s z s c h e Erscheinung auch unter Umständen beobachtet wird, die damit kaum verträglich sind, so bei der Absättigung des Trypsins durch Antitrypsin, so beweist das nichts gegen jene Auffassung, da in jedem einzelne Falle die Dinge natürlich anders liegen können.

6) Über die Beziehungen von Toxin und Antitoxin, 1904 S. 90. Vgl. auch Wien. klin. Woch. 1905. 15.

noch im abgelagerten Zustand ein von seinem Giftwert abweichendes Bindungsvermögen für Antitoxine besitzt, d. h. jeder in L_+ enthaltenen tödlichen Gabe immer dieselbe Menge des Normalserums entspricht. Die Annahme von Toxoiden ist hier also wohl überflüssig. Wenn trotzdem bei dem Lagern des Giftes und sicher bei geringen Schädigungen, z. B. durch Erhitzen auf 50° , Schütteln mit Luft oder dgl. eine starke Abschwächung beobachtet wurde, so muß man sich vorstellen, daß dabei gleichzeitig die bindende und die giftige Gruppe zerstört wird. Die „Ehrliche Erscheinung“ beobachteten die Autoren auch bei dem Rauschbrandgift, führen sie allerdings nicht auf das Vorhandensein von Toxonen zurück. Als Grund geben sie an, daß die Rauschbrandgiftlösungen regelmäßig ebensoviel Antitoxin binden, als ihrer Giftigkeit entspricht. Das solle im Sinne Ehrlich's nicht für die Entstehung von Toxonen sprechen, da sonst die Annahme gemacht werden müßte, daß Toxin und Toxon in allen Fällen in gleichbleibenden Verhältnissen in den Giftlösungen gebildet werden. Ehrlich selbst hat aber, wie wir S. 848 gesehen, gerade für frische Gifte selbst diese Annahme gemacht.

Wenn man sich außerdem die Zahlen von Grabberger und Schattenfroh für L_0 ansieht — denn dieses allein kommt in Betracht, weil aus L_+ ja die Toxone ausgeschaltet sind —, so findet man durchaus keine vollständige Übereinstimmung. So erfordert Gift E 0,033 mg. Gift A 0,044 mg Normalserum zur Neutralisierung jeder in dem L_0 -Wert enthaltenen tödlichen Gabe. Zweitens soll der beständige Parallelismus im Verhalten verschiedener Giftlösungen, der darin zum Ausdruck kommt, daß konzentrierte Giftlösungen eine relativ schmalere, schwächere, d. h. durch Lagern schwächer gewordenen eine relativ breitere „Schwellungszone“ (Toxonzone)¹⁾ zukommt, für das Fehlen bestimmter, Schwellung erregender Stoffe sprechen. Warum sollen denn aber Toxine und Toxone sich in genau demselben Maßstabe abschwächen oder verschwinden? Übrigens lehrt auch die Geschichte des Giftes A, daß in den ersten 5 Tagen, wo das Gift sich mäßig abschwächt, das Verhältnis zwischen Toxinen und Toxonen annähernd dasselbe bleibt (Taf. F).

Erst nach der außerordentlich starken Abschwächung des Giftes, die innerhalb 20 Tagen erfolgt, wo die Menge der Gifteinheiten im Kubikzentimeter Lösung auf den 30. Teil heruntergeht, zeigt sich die Toxonmenge im Verhältnis zur Toxinmenge stark vermehrt; das Toxon ist also durch die Lagerung nicht so stark mitgenommen worden wie das Toxin. Als entscheidenden Punkt betrachten aber Grabberger und Schattenfroh ihre Beobachtung, daß „gegenüber dem konzentrierten Gifte eine aus demselben durch 100fache Verdünnung hergestellte Lösung, mit ebenso stark verdünntem Serum titriert, eine wesentliche relative Verbreiterung der Schwellungszone zeigt“. So tötete z. B. 1 cm

1) Auch hier wie beim Diphtheriegift macht sich das Toxon durch veränderte Erscheinungen am lebenden Tier bemerkbar, statt der Nekrose und des Haarausfalls zeigt sich gewöhnlich vorübergehende Schwellung.

konzentrierter Giftlösung (die annähernd 300 tödliche Giftgaben enthielt), + 7,5 mg Serum gerade noch ein Meerschweinchen von 250 g, während 10,5 mg Serum glatte Heilung bewirkten. 0,01 ccm Gift, die sicher also mehr als 2 tödliche Gaben enthielt¹⁾, tötete aber — auf dasselbe Flüssigkeitsmaß verdünnt — gerade noch bei Zugabe von 0,04 mg Serum und ließ noch bei Zugabe von 0,06—0,13 mg Schwellungen zurück. Ein zweiter Versuch mit einem anderen Gift fiel ähnlich aus. Graßberger und Schattenfroh ziehen daraus den Schluß, daß in der verdünnten Giftlösung die Bindung des Toxins unvollständig oder doch mit verlangsamter Reaktionsgeschwindigkeit erfolge. Im wesentlichen stimmen wir damit überein, nur scheint es nicht nötig, hier das Toxon auszuschalten. Gerade dieser Giftbestandteil wird sich wegen seiner geringeren Verwandtschaft zum Antitoxin verhältnismäßig schwer binden.

T a f e l F²⁾.

Alter des Giftes	1 ccm Giftlösung enthält DL-Gaben	Wird vollständig neutralisiert durch	Tötet gerade ein Meerschweinchen n. Zusatz von	Jede DL wird also neutralisiert durch	
				in L ₀	in L ₊
frisch . .	100	4,4 mg Serum	2,5 mg Ser.	0,044 mg	0,025 mg
5 Tage alt	60	4,2 „ „	1,5 „ „	0,042 „	0,025 „
20 „ „	ca. 3,3	0,25 „ „	0,075 „ „	0,07 „	0,023 „

Graßberger und Schattenfroh finden den Einfluß der Zeit, die von der Mischung des Rauschbrandgifts bis zu der Einspritzung ins Tier verstreicht, bei konzentriertem Gift nur gering; beim 100fach verdünnten macht aber schon eine Stunde etwas aus. Eine Frist von 24 Stunden, die ja für die vollständige Bindung der Diphtherietoxone an das Antitoxin nötig ist (S. 840), würde wahrscheinlich auch das Ergebnis des obigen Versuchs, auf den die Autoren soviel Wert legen, nicht unerheblich geändert haben. Wir können nicht anerkennen, daß die Erfahrungen mit dem Rauschbrandgift das Vorhandensein von Toxon bei diesem Gift, geschweige denn die Toxonhypothese überhaupt widerlegt hätten.

Die Arbeit über das Rauschbrandgift hat auch zu der Epitoxonoidfrage einige beweiskräftige Tatsachen beigebracht, obwohl Graßberger und Schattenfroh selbst sie nicht in diesem Sinne deuten. Die Danyszsche Erscheinung wird nämlich auch beim Rauschbrandgift beobachtet: stellt man Gemische dieses Giftes mit überschüssigem Antitoxin her und prüft sie nach einiger Zeit, so findet man, daß das neu

1) Wir nehmen die niedrigste Zahl an, weil sonst der Versuch noch mehr Rätsel aufgeben würde. Die Bestimmung der tödlichen Gaben ist hier, wie auch in anderen Fällen, keine ganz sichere.

2) Abweichend von der gewöhnlichen Methode der Giftprüfung setzen die Autoren zu einer und derselben Menge Giftlösung soviel Immuns serum zu, wie nötig ist, um das Gift vollständig oder bis auf eine tödliche Gabe zu neutralisieren. In diesem Sinne sprechen wir vom L₀- und L₊-Wert.

zugesetzte Gift nicht in der Menge gebunden wird, die dem berechneten Antitoxinüberschuß entspricht, sondern nur in geringerer Menge. Es findet also eine scheinbare Einbuße an Antitoxin statt. Es liegt nahe, hier wieder an Epitoxonoide zu denken, die eine schwächere Verwandtschaft zum Antitoxin haben als Toxin und Toxon und daher bei der gewöhnlichen Art der einzeitigen Giftabsättigung nicht ins Spiel kommen, aber von einem Überschuß des Serums gebunden werden und aus dieser Bindung, wenn sie eine gewisse Zeit besteht, von Toxin oder Toxon nicht mehr oder nicht mehr vollständig verdrängt werden.

Nicht erklärt wird durch diese Annahme die weitere von **G r a ß b e r g e r** und **S c h a t t e n f r o h** gefundene Erscheinung, daß neutrale oder mit Toxin (oder Toxon) übersättigte Serungemische beim Lagern eine **E i n b u ß e a n G i f t** erleiden, indem sie bei späterer Prüfung entweder durch geringere Mengen von Antitoxin neutralisiert werden oder einen Überschuß von Antitoxin zeigen. So wurde ein „Übertoxingemisch“, das auf 1 ccm Gift 2 mg Serum enthielt, nachdem es 24 Stunden gelagert hatte, durch 4,8 mg Serum schon vollständig neutralisiert, während dieselbe Menge Gift allein 8 mg erforderte. Diese Erscheinung ist neu: **v. D u n g e r n** gebrauchte beim Diphtheriegift (S. 849), **S a c h s** beim Tetanolysin (S. 883) stets die gleichen Serummengen, ob sie es nun auf einmal oder in kleinen wiederholten Mengen zu dem Toxin zusetzten. Es fragt sich wie die Tatsache zu deuten ist. **G r a ß b e r g e r** und **S c h a t t e n f r o h** nehmen an, daß sowohl die scheinbare Einbuße an Antitoxin in den Überserungemischen als die an Toxin in den Übertoxingemischen dadurch erklärt werden, daß Toxin und Antitoxin sich nicht in bestimmtem gleichbleibendem Mengenverhältnis, sondern in wechselndem miteinander binden könnten, so z. B. nicht bloß t-Toxin mit a-Antitoxin, sondern auch 2 t mit a oder t mit 2 a. Unterschiede beständen zunächst schon insofern zwischen beiden Arten von Übersättigung, als verhältnismäßig ein viel größerer Überschuß von Antitoxin an Gift gebunden würde als umgekehrt. Die Übersättigung des Toxins mit Antitoxin führt ferner viel schneller zur Bindung und die Verbindung ist dauerhaft gegen Hitzegrade (60°), die das Toxin allein sehr rasch, das Antitoxin gar nicht schädigen, während die Übersättigung des Antitoxins mit Toxin langsamer erfolgt und die Verbindung eine lockere, wenig hitzebeständige ist. Es folgt daraus wohl, daß die Übersättigung mit Serum, die vielfach auf Epitoxonoide zurückgeführt werden kann, in jedem Falle eine andere Beurteilung erfordert als die mit Gift, die bisher unter den Bakteriengiften keine Analogie hat. Man könnte daran denken, zu der Erklärung der von **G r a ß b e r g e r** und **S c h a t t e n f r o h** festgestellten Verhältnisse das Vorhandensein zweier Arten von Antitoxinmolekülen anzunehmen, von denen die eine, das eigentliche Antitoxin, mit stärkerer Verwandtschaft begabt sein müßte als die andere, die man etwa „Antitoxinoid“ oder „Epiantitoxin“ nennen könnte. Daß der Bau der Antitoxine nicht so einfach ist, wie man früher geglaubt hat, lehren ja auch einige andere Erfahrungen (**P i c k** und **S c h w o n e r s** u. S. 888).

§ 276. **Abweichende Auffassungen über den Bau der Impfgifte.** Es läßt sich nicht leugnen, daß die wesentlich auf **E h r l i c h s** Forschungen beruhende Auffassung von dem Bau der Impf-

gifte, die eine Vielheit von Giftbestandteilen voraussetzt, allmählich recht verwickelt geworden ist und wahrscheinlich immer verwickelter werden wird, wenn man die Verhältnisse bei den einzelnen Giften noch gründlicher studiert. Immerhin erklären sich die Erscheinungen so gut, wie man es verlangen kann bei unserer gänzlichen Unkenntnis der chemischen Natur dieser Gifte. Nur eine scheinbare Vereinfachung bringt die von D a n y s z ¹⁾ und B o r d e t ²⁾ aufgestellte Theorie, die besagt, daß das Gift selbst einheitlich sei, aber sich in verschiedenem Verhältnis mit dem Antitoxin zu binden vermöge³⁾. B o r d e t stützte sich dabei nicht auf Tatsachen, die aus der Giftlehre, sondern auf solche, die aus der Lehre von der Hämolyse, der Agglutination und der Präzipitation bekannt sind. Die roten Blutkörper binden den Ambozeptor, die Bakterienkörper die Agglutinine, die Eiweißstoffe die spezifischen Präzipitine des Serums in sehr wechselndem Verhältnis. Es ist aber doch ein wichtiger Unterschied dabei: den Giftmolekülen, die sich mit verschiedenen Mengen Antitoxin verbinden, muß man auch nach B o r d e t quantitativ und qualitativ ungleiche Wirkungen zuschreiben, während z. B. Blutkörper, die viel oder wenig hämolytische Ambozeptoren gebunden haben, durch Komplement in gleicher Weise zur Auflösung gebracht werden. So würde die völlige Unschädlichkeit der Gifte dem Zustand entsprechen, in dem am meisten Antitoxin gebunden ist, das Toxon einem anderen, dem nicht soviel Antitoxin zukommt, und das Tritotoxoidgebiet des Ehrlichschen Giftspektrums (S. 846), einem Gift, das verhältnismäßig nur wenig Antitoxin an sich gekettet hat usw. Das Giftmolekül verändert also seine physiologische Wirkung je nach der Zahl der Antitoxinmoleküle, die es bindet. Das ist eine Voraussetzung, die dem Verständnis erhebliche Schwierigkeiten bereitet, jedenfalls nicht mehr einfach genannt werden kann. Viel verwickelter wird die Sache aber noch, wenn wir mit Hilfe der B o r d e t schen Vorstellung die Wandlungen, die das Giftspektrum im Laufe der Zeit erleidet — man denke z. B. an die Prototoxoide! — und die ungleiche Mischung der Giftbestandteile in den einzelnen Giftlösungen erklären soll. Ein Versuch, das in zufriedenstellender Weise durchzuführen, ist bisher noch nicht einmal unternommen worden. Vorläufig ist also die B o r d e t sche Theorie mit der E h r l i c h schen nicht in erfolgreichen Wettbewerb getreten. Immerhin besteht natürlich die Möglichkeit, daß sie für gewisse Fälle (s. o. Rauschbrandgift S. 886) zur Hilfe herangezogen werden könnte. So haben

1) Annal. Pasteur 1902. 5.

2) Annal. Pasteur 1903. 3.

3) Vgl. S a c h s , Zentr. Bakt. 37. 398, 1905.

Pick und Schwoner¹⁾ gefunden, daß beim Überneutralisieren von Diphtherielösungen mit gewissen Diphtherieseren erheblich mehr Antitoxineinheiten verschwinden, als der Rechnung entspricht, während bei anderen Seren der berechnete Überschuß wirklich freibleibt. Sie schließen daraus, daß die ersteren Seren (toxolabile, meist hochwertige Seren) Antitoxin enthalten müssen, die eine doppelte Bindung mit Toxin eingehen, die letzteren (toxostabile, minderwertige Seren), nur eine einfache. Nach Kraus und Schwoner²⁾ soll die Toxolabilität auch minderwertigen Seren zukommen. Sie schließen im übrigen aus Heilversuchen an Tieren und Menschen auf eine ungleiche Avidität der Antitoxine. Wir werden später sehen (§ 278), daß die Verwandtschaft zwischen Gift und Antitoxin namentlich im Tierkörper in mannigfacher Weise beeinflußt wird. Die Dinge liegen offenbar weit verwickelter, als man ursprünglich angenommen hat. Auch die Beobachtungen, die bei Mischung von Gift mit Zitratblut (Ransom) und bei Einspritzung von Gift in antitoxinhaltige Blutgefäße öfters gemacht worden sind, daß nämlich viel mehr Antitoxin dabei verschwindet, als der Giftmenge entspricht, könnte man in ähnlicher Weise deuten. Merkwürdig genug wäre freilich der große Unterschied in der Bindekraft des Blutserums und des ungeronnenen Blutes.

Auf den ersten Blick besser gelungen und durch seine Einfachheit überraschend erscheint der von Arrhenius und Madsen³⁾ gemachte Versuch, die verwickelten Verhältnisse der Bindung zwischen dem Bakteriengift und seinem Gegengift durch die Beziehungen zu erklären, wie sie zwischen Körpern mit schwacher Verwandtschaft, also für die sog. reversiblen Reaktionen bestehen. Eine nähere Betrachtung zeigt freilich, daß sich dabei bis jetzt unüberwindliche Schwierigkeiten ergeben.

Man kann nach Arrhenius und Madsen die Vorgänge, die sich bei Absättigung einer bestimmten Menge Ammoniak mit steigenden Mengen Borsäure ergeben, in Form einer Kurve darstellen, indem man in einem Koordinatensystem die Säuremenge als Abszisse und das ungebunden bleibende Ammoniak als Ordinate einträgt. Man findet, daß die erste Gabe Borsäure 50%, Ammoniak, die zweite Gabe nur noch 16,7%, die dritte Gabe 8,3%, jede folgende immer weniger absättigt, so daß ein geringer Ammoniakwert immer übrig bleibt. Es erklärt sich das aus dem Massengesetz von Guldberg und Waage, das die Abhängigkeit der Reaktionen von der Kon-

1) Wien. klin. Woch. 1904. 40 und Zeitschr. exper. Path. 1, 1905.

2) Zentr. Bakt. 48, 1908; vgl. ebenda Ref. 42 Beilage 154, 1908 mit Erörterung.

3) Zeitschr. physikal. Chem. 44, 1903.

zentration der reagierenden Körper und Reaktionsprodukte feststellt. Betrachtet man in dem angegebenen Beispiel NH_3 als Toxin — in der Tat ist es gegenüber roten Blutkörperchen ein hämolytisches Gift — und Borsäure als Antitoxin, so würde man nach der Ehrlichschen Ausdrucksweise den ersten Giftteil mit stärkerer Bindekraft als Prototoxin, den zweiten mit weniger starker als Deuterotoxin, den dritten mit schwächster als Tritotoxin und den Rest mit ganz geringer Bindekraft schließlich als Toxon bezeichnen können, während doch das Gift in Wirklichkeit nur ein einheitlicher Körper, das Ammoniak ist, und die Absättigungskurve ohne Sprünge durchaus kontinuierlich verläuft. Arrhenius und Madsen finden nun, daß die Absättigung des Tetanolysins durch sein Antitoxin in annähernd derselben Weise wie die des Ammoniaks durch Borsäure vor sich geht und schließen daraus, daß es sich auch hier nicht um Giftbestandteile mit verschiedener Verwandtschaft handelt, wie Ehrlich und Madsen selbst (S. 882) es früher angenommen, sondern nur um ein einheitliches Gift, das mit einer sehr schwachen Verwandtschaft zum Antitoxin begabt ist. Allerdings liegt die Sache selbst beim Tetanolysin und seinem Antitoxin, wo man noch am ehesten an eine Reaktion zwischen Körpern schwacher Verwandtschaft denken könnte, doch nicht ganz so einfach; zunächst müssen Arrhenius und Madsen die Existenz von Toxoiden, d. h. von solchen Giftbestandteilen, die zwar bindende, aber nicht giftige Eigenschaften besitzen, zugeben, wollen allerdings nur „Syntoxoide“, d. h. solche von gleicher Verwandtschaft mit den Toxinen gelten lassen. Daneben bestehen noch verschiedene Abweichungen in beiden Kurven, die von Arrhenius und Madsen nicht erklärt werden. Davon abgesehen hat man aber gewichtige Einwände gegen die Zulässigkeit ihrer Schlüsse erhoben. Erstens widersprechen die älteren Ergebnisse Madsens über das Vorkommen von Prototoxoiden (s. o. S. 883) beim Tetanolysin seinen späteren. Zweitens eignet sich nach Ehrlich¹⁾ dieses Gift wegen seiner Unbeständigkeit, der schon in wenigen Stunden erfolgenden, unkontrollierbaren Toxoidbildung sehr wenig für genaue Feststellungen. Drittens bestehen nach Nernst²⁾ theoretische Bedenken gegen die Zulässigkeit der Arrheniusschen Rechnungen. Schließlich hat Sachs³⁾ den Beweis geführt, daß bei der Reaktion zwischen Tetanolysin und Antitoxin der Gleichgewichtszustand stets ein verschiedener ist, je nachdem man das Gift auf einmal oder in Absätzen zum Antitoxin zusetzt, während, wenn einfach das Massengesetz gültig wäre, das Endergebnis ein gleiches sein müßte. Nach Arrhenius und Madsen müßte die Reaktion umkehrbar (reversibel) sein, was sie in Wirklichkeit nicht ist. Nur dem letztgenannten Einwand scheinen die beiden nordischen Forscher Wert beizulegen. In einer späteren Arbeit⁴⁾ untersuchten sie die „Danyzsche Erscheinung“ in gründlicherer Weise am Tetanolysin und konnten sie in gewissen Grenzen vollständig bestätigen. Zur Erklärung nehmen sie aber nicht die Epitoxonoide v. Dugerns

1) In der Sitzung der Bunsengesellschaft vgl. Zeitschr. f. Elektrochemie 1904. 673.

2) Ebenda S. 377 und 676.

3) Berl. klin. Woch. 1904. 16.

4) Sitzungsber. Akad. Wiss. Stockholm vom 16. XII. 1905. Ref. Zentr. Bakt. 39. 186.

an, sondern glauben an eine „langsame monomolekulare Umlagerung“ des freien Antitoxins, bei der vielleicht zwei Moleküle des Antitoxins mit je einem Giftmolekül in Verbindung träten. Die Wirkung bleibt unter Umständen dauernd bestehen und bewirkt dann wohl eine „Verfestigung“ der Giftbindung. Damit nähern sich die Verfasser augenscheinlich den Vorstellungen **Ehrlichs**.

Noch größer sind die Schwierigkeiten, die der Anwendung des Massengesetzes auf die Absättigung des Diphtheriegiftes durch Antitoxin entgegenstehen¹⁾. Hier haben wir am Anfang der Kurve wieder die **Protoxide**, am Ende die Toxone. Die Existenz der ersteren läßt **Madsen** in seiner früheren Arbeit noch gelten, bestreitet sie aber in der späteren ebenso entschieden, indem er die experimentellen Grundlagen auf zufällige Schwankungen der Empfänglichkeit bei den Versuchstieren zurückführt. Man wird angesichts dessen verlangen dürfen, daß gerade diese Fragen noch einmal in gründlichster Weise geprüft wird. Das gleiche Schicksal lassen **Madsen** und **Arrhenius** den Toxonen widerfahren, obwohl ihre eigenen Bestimmungen sich mit der Toxontheorie offenbar weit besser vertragen, als mit dem Massengesetz. Insbesondere nach der schon früher erwähnten Arbeit **Morgenroths** (S. 840), die die Verfasser nicht mehr berücksichtigen konnten, bleibt kaum ein Zweifel daran übrig, daß man ohne die Annahme solcher Stoffe außerstande ist, die nicht bloß quantitativ, sondern qualitativ verschiedene Wirkung der bis zum Toxongebiet abgesättigten Gifte sich verständlich zu machen. Schließlich haben **Arrhenius** und **Madsen** kaum den Versuch gemacht, sich mit den von **Danysz**, **v. Dungen**²⁾ und **Sachs**³⁾ studierten Erscheinungen, die beim zweizeitigen Zufügen von Gift zum Toxin-Antitoxingemisch sich bemerkbar machen und eine Nichtumkehrbarkeit der Toxin-Antitoxinverbindungen beweisen (S. 886), abzufinden. Auch die Arbeit, in der **Madsen** und **Walbum**⁴⁾ das Massengesetz auf die Reaktion des Rizins mit seinem Antitoxin übertragen haben, öffnet nach **Sachs** ähnlichen Einwänden Tür und Tor.

§ 277. Fortsetzung. Geschwindigkeit der Giftbindung. Wenn sonach die Bemühungen von **Arrhenius** und **Madsen**, an Stelle der verwickelten **Ehrlichschen** Auffassung vom Bau der Toxine einfachere Vorstellungen zu setzen, gescheitert sind⁵⁾, so wird man doch ihren Hinweis auf die Bedeutung des Massengesetzes für die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin, ebenso wie die unabhängig von **Arrhenius** und **Madsen** geäußerten

1) **Arrhenius**, Zeitschr. f. Elektrochemie 1904. 661; Berl. klin. Woch. 1904. 9; vgl. auch „Immunochemie“ 1907; **Madsen**, Zentr. Bakt. 34, 1903; **Arrhenius** und **Madsen** 36 und 37, 1904.

2) Deutsch. med. Woch. 1904 8/9; Zeitschr. f. Elektrochem. 1904. 783.

3) Zentr. Bakt. 37. 251, 1904.

4) Zentr. Bakt. 36. 242, 1903.

5) Vgl. auch dazu **Manwaring** in Studies of **Rockefellers** Institute for medic. research. VI No. 25, 1907 und **Craw**, Journ. of hyg. 1907. 501.

gleichsinnigen Bemerkungen E i s e n b e r g s ¹⁾ nicht übersehen dürfen. Ältere und neuere Erfahrungen (S. 840 u. § 278) haben nämlich gelehrt, daß die Toxin-Antitoxin-Reaktionen — die Analogien mit Agglutinin- und Ambozeptorreaktionen sollen ganz beiseite bleiben (Kap. XVII) — in der Tat in gewissen zeitlichen Grenzen wie solche zwischen Stoffen mit schwacher Verwandtschaft verlaufen, die umkehrbar sind und danach dem Massengesetz gehorchen müssen. Damit stehen wir aber nicht vor einer Vereinfachung des Problems, sondern eigentlich vor einer neuen Verwicklung. Ehe wir die betreffenden Erscheinungen erörtern, müssen wir noch einige andere Versuche erwähnen, die Toxin- und Antitoxinverbindung zu erklären. Mehrfach hat man zunächst die elektrischen Eigenschaften der Toxine und Antitoxine studiert, um daraus unter Umständen Schlüsse zu ziehen. Während R ö m e r ²⁾, um von den älteren Arbeiten von S m i r n o w u. a., die die Zerstörbarkeit der Toxine durch die Elektrolyse bewiesen, abzusehen, keine eindeutigen Ergebnisse erhielt, zeigten F i e l d und T o n g u e ³⁾, daß sowohl Toxin wie Antitoxin in neutralen und alkalischen Lösungen vom elektrischen Strom beide nach der Kathode übergeführt werden. Auch B e c h h o l d ⁴⁾ kam zu ähnlichen, wenn auch weniger ausgesprochenen Ergebnissen. Bestimmte Folgerungen daraus zu ziehen, also etwa, wie es die amerikanischen Forscher getan haben, aus der gleichen Richtung der Bestandteile im elektrischen Strom auf das Fehlen einer chemischen Verbindung zu schließen, ist aber nach ihm nicht erlaubt, da auch echte chemische Verbindungen, z. B. Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure, in ihren Bestandteilen gleiche elektrische Eigenschaften besitzen können, und andererseits die meisten organischen Reaktionen zwischen Körpern vor sich gehen, die elektrisch neutral sind.

Nur in gewisser Beziehung besser begründet erscheint die Auffassung, man hätte es bei der Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin, wie überhaupt zwischen Antigen und Antikörper nicht mit chemischen Verbindungen im eigentlichen Sinne, sondern mit physikalischen Beziehungen, wie sie zwischen Kolloiden bestehen, mit einer Art Ad- oder Absorption (Oberflächenanziehung, fester Lösung) zu tun. B o r d e t ⁵⁾ hat schon früher auf die Verwandtschaft der Agglutination

1) Zentr. Bakt. 34.

2) Berl. klin. Woch. 1904. 209; vgl. auch B i l t z, M u c h und S i e b e r t in Anm. 5 auf folgender Seite.

3) Journ. experim. Medic. 9.

4) Münch. med. Woch. 1907. 39.

5) Annal. Pasteur 1899 und 1900.

mit der Niederschlagsbildung kolloidaler Körper hingewiesen und die Bindung der Hämolysine an die roten Blutkörper mit der Absorption der Farben durch die Gewebefasern, des Jods durch Stärke verglichen. Z a n g g e r¹⁾, L a n d s t e i n e r und J a g i c²⁾, M. N e i ß e r, F r i e d e m a n n und B e c h h o l d³⁾, B i l t z, M u c h und S i e b e r t⁴⁾, P a u l i⁵⁾, P r i b r a m⁶⁾, P o r g e s⁷⁾ haben diese Gesichtspunkte weiter verfolgt. Im allgemeinen ist aber nicht zu übersehen, daß die unleugbaren Analogien, die einerseits zwischen der Bindung von Lysinen, Agglutininen und Präzipitinen und den Adsorptionsvorgängen und andererseits zwischen der Agglutination und Präzipitation und den sog. Kolloidreaktionen bestehen, in unserem Falle, wo es sich um die Beziehungen zwischen Toxinen und Antitoxinen handelt, fehlen. Nur ausnahmsweise binden sie sich in veränderlichen Verhältnissen und nur ausnahmsweise (beim Rizin⁸⁾) wird die Verbindung mit dem Antitoxin unlöslich. Ferner werden wir bei Besprechung der Verbindung von Agglutininen, Präzipitinen usw. mit ihren Antigenen sehen (§ 339 ff.), daß wir wegen ihrer Spezifität selbst hier Ursache haben, von einer chemischen Verbindung zu sprechen. Schließlich ist nicht zu vergessen, daß der Begriff der Ad- und Absorption vorläufig ein ziemlich dunkler und schwankender ist und jedenfalls die physikalischen (Oberflächen-)Wirkungen chemische Bindungen noch nicht ausschließen. Man sieht also nicht ein, was man damit gewinnt, wenn man statt der klaren chemischen Bezeichnung so unklare wählt. So ist denn auch B o r d e t von seiner ursprünglichen Ansicht zurückgekommen und weicht nur darin ab, daß er eine Mehrwertigkeit der bindenden Toxingruppen annimmt (S. 887). Die genannten Erörterungen haben aber auch wieder ein Gutes gehabt, indem sie die Aufmerksamkeit auf die kolloidale Natur der Antitoxine und Gifte gelenkt haben. Sehr möglich ist es, daß dadurch die Art der Reaktionen zwischen ihnen beeinflußt wird. Ja, es liegt nahe, das eigentlich Bezeichnende an der Verbindung der Gifte und ihrer Antitoxine, die verhältnismäßig geringe Reaktionsgeschwindigkeit und die allmähliche Befestigung der Verbindung, auf ihre Kolloidnatur zurückzuführen. N e r n s t⁹⁾ drückt

1) Zentr. Bakt. 34. 428, 1903 und Zeitschr. f. Elektrochemie 1904. 670.

2) Münch. med. Woch. 1903. 18; Wien. klin. Woch. 1904. 5.

3) Münch. med. Woch. 1903. 11; 1904. 19.

4) B e h r i n g s Beitr. z. experim. Ther. 10, 1905.

5) Wien. klin. Woch. 1905. 25.

6) K o l l e - W a s s e r m a n n s Handb. 2. Erg.-Bd. 278, 1909.

7) Kolloide u. Lipoide usw. in K r a u s' u. L e v a d i t s Handb. 2, 1909

8) J a c o b y, Hofmeisters Beitr. chem. Physiol. 2, 1902.

9) Zeitschr. f. Elektrochemie 1904. 379.

das so aus, daß die erste Phase der Einwirkung in einer Adsorption des Toxins durch das größere Molekül des Antitoxins — einem umkehrbaren Vorgang —, die zweite in der eigentlichen chemischen Reaktion — einem nicht reversiblen Vorgang — bestehe. Wie dem auch sei, die Tatsachen sind deutlich genug.

§ 278. Bedingungen, welche die Giftbindung beeinflussen. Schon Ehrlich hatte in seiner grundlegenden Arbeit über den Bau des Diphtheriegifts (S. 834) im Hinblick auf seine Erfahrungen beim Tetanolysin auf die Bedeutung der Konzentration und Temperatur für die Schnelligkeit der Bindung des Toxins an das Antitoxin hingewiesen. Ein im Jahre 1895 gemachter Versuch zeigte ihm, daß die Wirkung des Giftes in einem bestimmten wenig konzentrierten Serum-Tetanolysingemisch, wenn man es sofort benutzt, 40mal so groß ist, als wenn man es 2 Stunden lang stehen läßt. Ein älterer Versuch, der ebenfalls die Bedeutung der Zeit für die Reaktion schlagend beweist, allerdings mit Schlangengift angestellt ist, stammt von Martin und Cherry¹⁾. Sie zeigten zunächst, daß das Gift allein durch ein mit Gelatine ausgefülltes Filter²⁾ bei einem Druck von 50 Atmosphären hindurchgepreßt wird, während Antitoxin nicht hindurchgeht. Mischten sie jetzt beide in dem Verhältnis, daß sie sich neutralisierten, und unterwarfen sie die Mischung der Filtration, so ging in der ersten Zeit das Gift noch hindurch, und erst wenn die Mischung 30 Minuten gestanden hatte, nicht mehr. Wahrscheinlich ist es, daß die folgenden Versuche ebenso gedeutet werden müssen. Roux und Calmette³⁾ fanden, um mit der ältesten Beobachtung anzufangen, daß eine 10 Minuten früher hergestellte Mischung von Schlangengift und Immunserum, die im Tier unwirksam war, wieder giftig wurde, wenn sie einige Minuten auf 68° erhitzt wurde⁴⁾. Eine wirkliche Sprengung der neutralen Verbindung des Kobragiftes mit seinem Antitoxin bewerkstelligte dagegen Morgenroth⁴⁾ durch ein kräftiges Mittel, die Behandlung mit Salzsäure (S. 857). Auch bei den Serumhämolysinen will v. Liebermann die Verbindung dieser Stoffe mit den roten Blutkörpern durch verdünnte Säure gelöst haben und vergleicht ihre Bindekraft geradezu mit der von Säuren. Bei Bakterien- und Serumagglu-

1) Brit. med. Journ. 1898. II. 1120.

2) Journ. of physiol. 20, 1896. In ein Chamberlandfilter wird in der Wärme unter Druck von 10 Atmosphären 10prozentige Gelatinelösung eingepreßt, die überschüssige Gelatine abgegossen und dann das Filter oberflächlich gereinigt.

3) Annal. Pasteur 1895. 250.

4) Berl. klin. Woch. 1905. 50.

t i n e n gelingt diese Abspaltung allerdings, und zwar auch ohne Zuhilfenahme von Säuren (§ 337 ff.). K. M e y e r bestreitet aber die Tatsache für die Serumhämolysine.

Eine ähnliche Beobachtung wie R o u x und C a l m e t t e machte W a s s e r m a n n ¹⁾, als er P y o c y a n e u s g i f t und Antitoxin, die er — wohl kurz vorher — miteinander in neutralisierenden Mengen zusammengebracht hatte, zum Kochen erhitzte. Ebenso vernichtete D a n y s z ²⁾ durch 16stündige Verdauung mit Pepsinsalzsäure (bei 45°) in einer neutralen Mischung von Rizin und Antirizin das letztere vollständig und gewann dann das Gift zum Teil wieder. M a d s e n und W a l b u m ³⁾ gelang es, einer neutralen Rizin-Antirizinmischung auch nach 2 Stunden langem Stehen durch Zufügung von roten Blutkörperchen einen Teil des Rizins zu entziehen. Es ist aber fraglich, ob ihr Schluß gerechtfertigt ist, das fertige Gleichgewicht zwischen Rizin und Antirizin sei durch das Zutreten der roten Blutkörperchen gestört und die schon bestehende Verbindung durch Dissoziation wieder gelöst worden. Wahrscheinlich ist, daß es überhaupt noch nicht zu der vollständigen Verbindung gekommen war, weil die Mischung nicht lange genug in Berührung gewesen war. In gleicher Weise zerstörte L ö w e n s t e i n ⁴⁾ in einer 30 Minuten vorher angesetzten Mischung von T e t a n u s g i f t und Antitoxin das Gift und gewann das Antitoxin wieder dadurch, daß er 48 Stunden lang Wasserstoff-superoxyd einwirken ließ. Nach dem Verfasser soll hier die schon fertige Verbindung des Antitoxins mit dem Gift durch Einfluß des H₂O₂ gesprengt und so das Antitoxin freigemacht worden sein. Es liegt wohl vorläufig näher, auch hier anzunehmen, daß es in der ersten halben Stunde überhaupt noch nicht zu einer festen Verbindung gekommen war. Schon K n o r r ⁵⁾ kam durch den Vergleich der Wirkungen des Antitoxins in konzentrierten und verdünnten Tetanustoxinlösungen und die Verschiedenheit der krankmachenden und immunisierenden Antitoxin-Giftmischungen zu dem Schluß, daß die Festigkeit der Bindung zwischen Antitoxin und Gift von der Konzentration der reagierenden Stoffe und der Zeit, in der sie aufeinander wirken, abhängig sei. B e h r i n g ⁶⁾ stellte dann fest, daß das „Gesetz der Multipla“ (S. 833) nur dann auch in verdünnten Lösungen von Tetanus-

1) Zeitschr. f. Hyg. 22. 310, 1896.

2) Annal. Pasteur 1902.

3) Zentr. Bakt. 36. 254.

4) Wien. klin. Woch. 1903. 50.

5) Münch. med. Woch. 1898. 11/12 (dort die früheren Arbeiten).

6) Allgem. Therap. der Infekt. in E u l e n b u r g und S a m u e l. Hand. allgem. Ther. 1899 S. 1028. Auch Beitr. experim. Ther. H. 3.

gift und Antitoxin strenge Gültigkeit besitzt, wenn beide Stoffe 2 T a g e miteinander in Berührung gewesen sind. Wahrscheinlich erklären sich aus der Nichtberücksichtigung der zeitlichen Verhältnisse auch die bekannten älteren Versuche H. B u c h n e r s ¹⁾, in denen sich die für Mäuse unschädlichen Tetanusgift-Antitoxingemische Meerschweinchen tödlich gezeigt hatten und diejenigen von V a i l l a r d und R o u x ²⁾, in denen ähnliche Unterschiede hervortraten, wenn man neben normalen Meerschweinchen solche benutzte, die gegen Vibrionen immunisiert oder nachträglich mit beliebigen Bakterienprodukten behandelt worden waren. Es ist sehr wohl denkbar, daß entweder die Aufsaugungsgeschwindigkeit von der Unterhaut aus oder die Anziehungskraft der giftempfindlichen Zellen für die Gifte verschieden ist und zur Trennung der Gifte vom Antitoxin führt, wenn eine an sich neutrale, aber erst vor kurzem hergestellte Mischung von beiden in den Körper eingeführt wird. So würde sich auch am einfachsten die namentlich durch B e h r i n g (a. a. O.) manchmal beobachtete „Überempfindlichkeit“ immunisierter und reichliche Antikörper im Blute enthaltender Tiere gegen kleinste Gaben Tetanusgift erklären, wenn sie nicht zu den ganz andersartigen Erscheinungen der „Anaphylaxie“ gehört (S. 793 u. § 344). In die uns hier interessierenden Gruppen von Erscheinungen gehören aber sicher die Ergebnisse, die W a s s e r m a n n und B r u c k ³⁾ erhielten, wenn sie neutrale Tetanusgift-Antitoxinmischungen Meerschweinchen mit Adrenalin zusammen unter die Haut einer Hinterpfote einimpften. Es trat hier Tetanus ein, wie die Verfasser annehmen, deswegen, weil durch die Adrenalinwirkung die Resorptionsbahn für das Antitoxin (der Blut- oder besser der Lymphweg) versperrt war, das Gift aber ungestört seinen Weg in die peripheren Nerven hinein nehmen konnte. Ließ man die Mischung vor der Einspritzung zwei Stunden in Berührung, oder nahm man von vornherein einen Überschuß von Antitoxin, so blieb der Tetanus auch bei dem Adrenalintiere aus.

Auf andere Umstände, die außer der Konzentration und Zeit noch für die Bindung zwischen Tetanusgift und Antitoxin von Bedeutung sind, haben K n o r r, R a n s o m und B e h r i n g hingewiesen. Nach K n o r r vermag 10 prozentige K o c h s a l z l ö s u n g die Bindung des Antitoxins, ebenso wie der Gehirnmasse an Tetanusgift zu hemmen (S. 879). R a n s o m ⁴⁾ machte dann die eigentümliche Beobachtung, daß in Z i t r a t b l u t gelöstes Tetanus-

1) Münch. med. Woch. 1893. 23/24.

2) Annal. Pasteur 1894. 725.

3) Deutsch. med. Woch. 1904. 21.

4) Bei B e h r i n g, Deutsch. med. Woch. 1898. 19.

gift 25—50, Diphtheriegift 100mal mehr Antitoxin zur Neutralisierung erfordert als sonst. V. B e h r i n g ¹⁾ hat später in Gemeinschaft mit K i t a s h i m a diese Angaben R a n s o m s, wenn auch nicht in vollem Umfange, bestätigen können. Mindestens das Taubenblut und einige Male auch das Blutserum von Tauben hatte eine solche bindungshemmende Wirkung und zwar auch dann, wenn man erst das Blut mit dem Antitoxin mischte und hinterher das Gift zugab. Dagegen blieb der Einfluß des Blutes — wohl weil die Reaktion schon im Gange war — anscheinend gering, wenn man erst das Gift mit dem Antitoxin mischte und dann das Blut hinzufügte. Dahin gehört auch die von K n o r r aufgefundene und von B e h r i n g bestätigte Tatsache, daß Tetanusgift nach kurzem Aufenthalt in der Blutbahn von Hühnern und Gänsen sehr viel schwerer durch Antitoxin zu neutralisieren ist, als vor dem Eintritt ins Blut. In gemeinsamen Untersuchungen mit R ö m e r ist B e h r i n g ²⁾ dann zu der Vorstellung gelangt, daß in jedem antitoxischen Serum neben dem Antitoxin ein fermentartiger Stoff, ein „Konduktor“ vorhanden sei, der eigentlich erst die Bindung des Giftes an das Antitoxin vermittele. In frischem Serum finde er sich reichlicher, als im abgelagerten oder mehrere Tage auf 40—50° erhitzten. Im lebenden Körper wäre dieser Stoff vielleicht im Achsenzylinder der Nerven vorhanden. Jedenfalls zeigen sich neutrale Gift-Antitoxinmischungen, ob sie konzentriert oder verdünnt sind, ob sie kürzere oder längere Zeit hergestellt sind, bei intrazerebraler Einspritzung gleich ungiftig. Eine Wirkung des Konduktormangels im Serum soll sich darin zeigen, daß die fast neutralisierten Gift-Antitoxinmischungen bei Verdünnung stärker giftig werden. Ein Urteil über die Erscheinungen wird dadurch erschwert, daß v. B e h r i n g keine näheren Angaben über die Bedingungen des Versuchs und namentlich darüber macht, ob etwa eine Verlängerung der Beobachtungszeit daran etwas ändert. In diesem Zusammenhang sind Bemerkungen, die zuerst M a d s e n ³⁾ und dann O t t o und S a c h s ⁴⁾ am B o t u l i s m u s - und S p i n n e n g i f t gemacht haben, wichtig. Sie fanden ebenfalls, daß verdünnte Mischungen dieser Gifte mit Antitoxinen giftiger sind als die konzentrierten. O t t o und S a c h s stellten aber fest, daß die durch Verdünnung herbeigeführte Dissoziation der Gifte aus ihrer Verbindung mit den Antitoxinen schwächer ist oder ganz ausbleibt, wenn die Mischungen vor ihrer Verdünnung lange genug, z. B. 24 Stunden, in Berührung geblieben sind. Bei subkutanen Einspritzun-

1) Allgem. Ther. (s. o.) S. 1032.

2) Deutsch. med. Woch. 1903. 35 und Beitr. experim. Therap. 7, 1904.

3) Zentr. Bakt. Ref. 37. 373.

4) Zeitschr. experim. Pathol. 3, 1906.

gen war der Unterschied weniger ausgeprägt als bei intravenösen, was auf eine Beschleunigung der Bindung durch das subkutane Gewebe hinweist (s. u. Diphtherie). Umgekehrt wie in den Behring'schen Versuchen waren übrigens gerade frische, nicht abgelagerte Sera der Dissoziation unterworfen. Die Verfasser lassen dahingestellt, ob hier eine nachträgliche Änderung der Avidität des Antitoxins stattgefunden hat, oder ein „negativer, die Verbindung hemmender Katalysator“ aus dem Serum allmählich verschwindet.

Bei Diphtherieimmunisierungen sind Salomonsen und Madsen¹⁾ schon vor längerer Zeit zu wichtigen Ergebnissen gelangt, indem sie die Veränderungen, die im Antitoxingehalt des Blutes im Laufe der Zeit auftreten, genauer verfolgten und in Beziehung setzten zu der Menge des eingespritzten Giftes. Dabei zeigte sich nämlich, daß der Abfall des Antitoxins, der nach jeder Einspritzung eintritt, sehr viel größer ist, als man erwarten sollte, wenn man die für die Reagensglasversuche geltenden Regeln der Giftneutralisierung als gültig auch für den Tierkörper ansehen könnte. Er betrug z. B. $\frac{1}{3}$ des ganzen Gehalts, während die Menge des Gifts nach der Rechnung $\frac{1}{13000}$ entsprochen hätte. Nachher stieg die Antitoxinmenge wieder, die Immunisierung hatte also Erfolg. Man könnte daraus schließen, daß das Gift nicht bloß sich mit dem Antitoxin des Blutes in einem weit stärkeren Verhältnis, als es im Reagensglas der Fall ist, zu binden vermag, sondern noch daneben an die antitoxinliefernden Zellen herantritt, also nicht einmal vollständig von den Blutantitoxinen gebunden wird. Die Tatsache selbst scheint allgemein bei der Immunisierung mit Bakteriengiften hervorzutreten und wurde z. B. auch von Forßmann und Lundström²⁾ bei Herstellung von Botulismusanantitoxin beobachtet³⁾. Wie sich das überreichliche Verschwinden des Blutantitoxins unmittelbar nach der Einspritzung erklärt, ist noch nicht aufgeklärt, die Annahme einer

1) Annal. Pasteur 1897. 323.

2) Ebenda 1902. 299.

3) Ob bei passiver Immunisierung, z. B. bei vorheriger Einspritzung des Antitoxins, ein ähnlicher Verlust eintritt, ist nicht ausdrücklich festgestellt. Er scheint aber mindestens beim Tetanusantitoxin viel geringer zu sein, denn nach Behring genügt eine Antitoxingabe, die viermal so groß ist, als die bei Mischung im Reagensglas nötige, um die Vergiftung durch intravenös eingeführte, vielfach tödliche Giftmengen zu verhüten, wenn das Antitoxin 10 Minuten vor dem Gift in das Blut eingespritzt wird. Und auch beim Diphtherieantitoxin hat Dönitz ähnliche Erfahrungen gemacht (vgl. Infektionslehre). Das macht fast den Eindruck, als ob das passiv übertragene (oder fremde) Antitoxin sich anders verhielte, d. h. energischer wirkte als das durch aktive Immunisierung entstandene.

so gewaltig verstärkten Bindekraft des Giftes für das intravaskuläre Antitoxin ist doch recht gewagt, andererseits aber die oben für die Erfahrungen *R a n s o m s* mit Zitratblut gegebene Erklärung, es werde nur der Antitoxinmangel vorgetäuscht durch das Vorhandensein eines bindungshemmenden Faktors im Blut, für diese Versuche, die doch nur mit kleinen Mengen des Bluts (oder mit Serum?) angestellt worden sind, nicht zulässig. Jedenfalls bewirkt die regelmäßige Steigerung des Antitoxingehalts im Blut bei den Immunisierungen ebenso wie die gelegentlich vorkommende Überempfindlichkeit (s. o), daß bei allen Giften die Bindung an das im Blut in Massen zur Verfügung stehende Antitoxin zum Teil ausbleibt, also auch beim Diphtheriegift nicht so schnell und vollständig erfolgt, wie etwa die Reaktion zwischen starken Säuren und Alkalien. Zu diesem Vergleich war *E h r l i c h* allerdings früher gekommen auf Grund der Prüfung von Diphtheriegift-Antitoxinmischungen unter der Haut des Meerschweinchens. Hier erwies sich selbst eine Berührung, die nur 15 Minuten dauerte, als „überflüssig lang“¹⁾. Die späteren Erfahrungen v. *D u n g e r n s* und namentlich *M o r g e n r o t h s*²⁾ führten, wie wir schon früher gesehen (S. 840), auch die Schule *E h r l i c h s* zu einer anderen Auffassung. Es zeigte sich, daß zu einer vollständigen Absättigung des Diphtheriegifts mit seinem Antitoxin eine Stunde Aufenthalt bei 40° und 24 Stunden bei 21° nötig sind, und daß die abweichenden Prüfungsergebnisse am Meerschweinchen anscheinend nur dadurch zustande kommen, daß das Unterhautgewebe dieser Tiere eine beschleunigende Wirkung auf die Verbindung ausübt³⁾. Im Blute der Meerschweinchen und ebenso wie bei anderen Tieren erfolgt die Bindung viel langsamer. Damit stimmen denn auch andere Tatsachen überein. So versteht man jetzt, wie es *M a d s e n* und *W a l b u m* (S. 894) möglich wurde, aus einer neutralen Mischung von Diphtheriegift und Antitoxin das erstere dadurch zu trennen, daß sie das frisch bereitete Gemenge bei niedriger Temperatur auf ein Röhrchen mit fester Gelatine brachten und in diese hinein diffundieren ließen. Da das Gift schneller diffundiert als das Antitoxin, so zeigte sich, daß in einer gewissen Entfernung von der Berührungsfläche die Gelatine gifthaltig geworden war. Zweifelhafter in ihrer Deutung sind andere Erfahrungen, so namentlich die von *K r e t z*⁴⁾, nach

1) Berl. klin. Woch. 1903. 35.

2) Zeitschr. f. Hyg. 48, 1904.

3) Reagensglasversuche, die die Vermutung bestätigen, fehlen. Vgl. o. S. 896 die entsprechenden Erfahrungen von *O t t o* und *S a c h s* bei Wurstgift.

4) Zeitschr. f. Heilk. 23. H. 10, 1902.

der es zwar nicht oder nur in ganz unerheblichem Maße gelingt, normale Tiere mit einem neutralisierten (abgelagerten) Gemisch von Diphtheriegift und Antitoxin zu immunisieren, wohl aber solche Tiere, die vorher schon mit dem Gift allein längere Zeit behandelt worden waren. Man nimmt hier gewöhnlich an, daß die fertige Toxin-Antitoxinverbindung durch die stärkere Anziehungskraft der Zellrezeptoren des aktiv immunisierten Tiers für das Gift (vgl. § 279) gesprengt werde, etwa wie die Salzsäure im Morgenrothschen Versuche (S. 857) das Kobragift aus seiner Verbindung mit dem Antitoxin löse. Vielleicht war aber in den Kretzschen Versuchen die Verbindung doch nicht vollständig gefestigt, es könnte dann schon die reichliche Ausstattung der Zellen des immunisierten Tieres mit Rezeptoren zur Erklärung dieser „paradoxen Erscheinung“ genügen. Umgekehrt darf man die aus Tierversuchen Dönitz', Behrings u. a. folgende Tatsache, daß nämlich das bereits an die Zellen „gebundene“ Gift diesen entrissen und dadurch eine Heilung der beginnenden Vergiftung bewirkt werden kann, noch nicht ohne weiteres zu dem Schluß verwerten, daß das Antitoxin des Heilserums zu dem Gift eine größere Verwandtschaft besitze als zu den giftempfindlichen Zellen, denn wir haben bisher im allgemeinen keine sicheren Mittel, den Zeitpunkt festzustellen, wo das Gift an die Zellen wirklich gebunden, und zwar fest gebunden ist. Hier wie in dem Kretzschen Falle würde vielleicht das Massengesetz seine einfache Anwendung finden.

Ebensowenig ist übrigens die praktisch gewiß sehr wichtige Erfahrung Dönitz', daß bei leichter Tetanusvergiftung die Tiere noch 20 Stunden nach der Vergiftung durch große Gaben Antitoxin gerettet werden können, Diphtherietiere aber nur nach 6—8 Stunden, dafür beweisend, daß das letztere Gift sich fester und schneller an die Zellen binde als das erstere, da die Wege, die beide Gifte nehmen müssen, um zu den giftempfindlichen Zellen zu gelangen, sehr verschieden lang und ihre Schicksale dabei nur unvollkommen bekannt sind.

Etwas klarere Vorstellungen gewinnen wir über die Unterschiede, die in dieser Beziehung bei den verschiedenen Giften bestehen, durch Reagensglasversuche mit Bakteriohämolysin. Während Madsen¹⁾ in Ehrlichs Laboratorium gefunden hatte, daß es selbst 15—30 Minuten nach Einbringen von Blutkörperchen in Tetanolysin noch gelingt, diese vor der Lösung durch genügend

1) Zeitschr. f. Hyg. 32, 1899.

große Gaben Serum zu schützen, obwohl gewisse Giftmengen schon nach 5 Minuten an die Blutkörper „gebunden“ werden, und während er die Antitoxinmengen, mit denen sich gleiche „Heilerfolge im Reagensglas“ erzielen lassen, nach 5 Minuten ungefähr auf das Doppelte, nach 15 Minuten auf das Dreifache, nach 30 Minuten auf das Fünffache derjenigen Gabe, die bei sofortiger Anwendung gebraucht wird, bestimmt hatte, erhielten K r a u s und L i p s c h ü t z ¹⁾ mit Tetanolysin und anderen Bakterienlysinen sehr verschiedene Ergebnisse. So konnten sie mit der einfach lösenden Gabe T e t a n o l y s i n vergiftete Blutkörper selbst bei gleichzeitiger Zugabe von Antitoxin erst mit einer 100fach größeren Menge vor der Lösung schützen, als dazu nötig waren, wenn Gift und Antitoxin vorher eine Stunde lang bei 37° miteinander in Berührung gewesen waren. 10 Minuten später hatte selbst die 2000fache Menge keine Heilwirkung mehr. In einem Versuch mit S t a p h y l o l y s i n schützte die 10fache Menge Antitoxin nur, wenn sie gleichzeitig zugefügt wurde, vor der einfach lösenden Gabe, die 200fache nicht einmal vollständig unter gleichen Bedingungen vor der dreifachen Gabe. In einem zweiten Versuch mit einem anderen Staphylolysin bewahrte die fünffache Menge Antitoxin bei gleichzeitiger Zugabe, die zehnfache nach 5 Minuten, die 1000fache nach 10 Minuten vor der einfachen Giftgabe. Am schwierigsten war die Heilung der V i b r i o l y s i n vergiftung, da erst die 500fache Menge Antitoxin bei gleichzeitiger Zumischung die Blutkörper vor der Lösung rettete. Zum Teil könnten diese Unterschiede wohl bedingt sein durch die G e s c h w i n d i g k e i t d e r B i n d u n g d e r G i f t e an die B l u t k ö r p e r ²⁾. Am größten, d. h. schon binnen 5 Minuten fast vollendet ist sie beim Vibriolysin, wie K r a u s und L i p s c h ü t z feststellten, indem sie die Blutkörperchen mit der einfachen Gabe Hämolysin mischten, nach verschiedener Zeit abzentrifugierten und Bodensatz und Flüssigkeit getrennt auf Lösung prüften, während beim Tetanolysin und Staphylolysin zwar eine gewisse Giftmenge sehr schnell gebunden wird, aber noch nach 30 Minuten ungebundene Teile nachweisbar sein können. Da die Heilungsmöglichkeit, wenn man nur die Antitoxinmenge groß genug wählt, bei allen Giften in der ersten Zeit vorhanden ist, so muß man den Schluß ziehen, daß das schon von den Blutkörperchen aufgenommene Gift diesen durch das Antitoxin entzogen werden kann. Im Unklaren bleiben wir freilich auch hier wieder darüber, inwieweit die A u f n a h m e, das E i n d r i n g e n in die Zelle von vornherein auf einer

1) Zeitschr. f. Hyg. 46, 1904.

2) Vgl. dazu die Arbeiten von V o l k, S c h e r u. a. bei den Hämolysinen der Bakterien § 313 und 314.

chemischen Bindung oder bloß auf einer Art Absorption beruht, können aber sagen, daß aller Wahrscheinlichkeit nach schließlich eine mit unseren Mitteln unlösbare Bindung der Gifte an das Stroma der Blutzellen, also eine ähnliche Verfestigung erfolgt, wie wir sie für die Reaktionen der Gifte mit den Antitoxinen kennen gelernt haben. Die Ehrliche Seitenkettentheorie nimmt daher an, daß die „Rezeptoren“, d. h. die hämolysinbindenden Atomgruppen der Blutkörper, identisch seien mit den haptophoren Gruppen der Antitoxine. Ein strenger Beweis dafür fehlt freilich. Die Bindung könnte auch durch andere „giftzuleitende“ Seitenketten der Zellen bewerkstelligt werden (§ 279).

Spricht die Tatsache, daß durch genügend große Mengen Antitoxin die Bindung der Gifte an die Blutkörper rückgängig gemacht werden kann, dafür, daß sie zunächst eine lockere, die Reaktion reversibel ist, so zeigen andererseits die oben angegebenen Mengenverhältnisse, die zwischen Gift und Gegengift bestehen müssen, um die Hämolysen hintanzuhalten, wenn man die Blutkörper gleichzeitig mit den beiden in Berührung bringt, daß die Verwandtschaft der Gifte, und zwar besonders wieder die des Vibrionolysins, zu den Blutkörpern von vornherein eine größere ist als die zum Antitoxin¹⁾. Selbstverständlich kommt neben der Bindungsgeschwindigkeit und Bindungskraft als dritter Faktor, der die Heilungsmöglichkeit beeinflußt, in Betracht die Giftigkeit des Hämolysins für die Blutkörper, d. h. um mit Ehrlich zu sprechen, die Energie, mit der die toxophore Gruppe der Gifte nach der Bindung ihre Wirkung auf die Zellen ausübt. Man wird sich vorstellen dürfen, daß die im übrigen uns noch völlig unbekannten chemischen Prozesse, die zur Lösung der Blutkörper führen (§ 314), eine gewisse Zeit erfordern, deren Länge von der Temperatur abhängt, und daß vielleicht diese Prozesse in gewissen Stadien noch aufzuheben oder rückgängig zu machen sind. Diese Reaktionsgeschwindigkeit der Lösung zu messen, sind wir freilich bisher noch nicht imstande, da wir nicht wissen, ob die Giftwirkung erst nach erfolgter Befestigung der Gifte oder schon bei lockerer Bindung beginnt. Also gelingt es ebensowenig durch die Reagensglasversuche wie durch die Tierversuche mit anderen Infektionsgiften, die leicht festzustellende Zeit, die von der Berührung der Gifte mit den Zellen bis zum Eintritt der Vergiftungserscheinungen verstreicht, die sog. Inkubationszeit, in ihre drei Bestandteile, die Zeit des Eindringens, der Bindung und der Vergiftung selbst, zu zerlegen.

1) Ob das auch für den lebenden Körper gilt, wäre freilich noch zu entscheiden (§ 315).

Die in diesem Abschnitt geschilderten Erfahrungen über das Verhalten der Immungifte zu ihren Antikörpern und die daraus abgeleiteten Vorstellungen über ihren Bau sind, wie man sieht, noch recht unvollständig. Zu verwundern ist das aber nicht, wenn man erwägt, daß uns die chemische Natur der beiden Reaktionskörper¹⁾ noch völlig unbekannt ist.

§ 279. Verhältnis der zuleitenden und impfenden zu den bindenden Giftgruppen. Ehrlichs Seitenkettentheorie. Wie wir gesehen (S. 838), schreibt Ehrlich dem Diphtherie- und anderen Impfgiften neben einer „toxophoren“, d. h. giftige Krankheitserscheinungen hervorrufenden Gruppe nur noch eine „haptophore“, d. h. bindende Gruppe zu und erklärt durch die Wirkung der letzteren gleichzeitig dreierlei Leistungen dieser Gifte: die Bindung an die giftempfindlichen Zellen (Giftzuleitung) als Vorbedingung der Giftwirkung, die Vereinigung mit den antitoxinliefernden Zellen und deren Anregung zur Antitoxinbildung (Immunisierung) und schließlich die Neutralisierung (Bindung) der freien Antitoxine. Nur von der dritten Annahme haben wir in den vorstehenden Abschnitten ausführlich gesprochen, und doch machen erst alle drei Voraussetzungen den wesentlichen Inhalt der vielgenannten „Seitenkettentheorie“ Ehrlichs aus, indem sie die merkwürdige biologische Tatsache erklären sollen, daß dieselben Stoffe, die den Tierkörper in großen Gaben vergiften, durch kleine, unter Umständen wiederholte Gaben in demselben die Neubildung von Gegengiften, die für jedes Gift besonderer Art sind, und damit eine arteigentümliche („spezifische“) Giftfestigkeit (Giftimmunität) hervorrufen. Ehrlich denkt sich den Zusammenhang so, daß zunächst das Giftmolekül an die giftempfindlichen Zellen, z. B. des Nervensystems, herantritt, sich mit ihren „aufnehmenden“ Gruppen (Seitenketten, Rezeptoren) durch seine eigene bindende Gruppe verkettet und damit seiner giftigen, etwa nach Art eines Ferments gebauten Atomgruppe einen Angriffspunkt verschafft. Erliegt das Tier dem Gift, so ist damit der Angriff zu ungunsten desselben erledigt, übersteht es aber, so folgt auf den Angriff als eine Gegenwirkung, die den Schaden auszugleichen sucht, eben die Gegengiftbildung, die Giftimmunität: die durch die bindende Gruppe des Toxins besetzten aufnehmenden Seitenketten der Zellen werden beseitigt, und die dadurch entstandenen Lücken durch Neubildung gleicher Seitenketten

1) Über die Eigenschaften des Antitoxins selbst vgl. Immunitätslehre.

ausgefüllt. Es bleibt aber, wie so häufig im geschädigten Tierkörper — man denke an die Wundheilung durch Granulationen —, nicht bei einfachem Ersatz, sondern die Seitenketten werden überreichlich gebildet, oder weil sie keinen Platz in den Zellen haben, nach außen ins Blut abgestoßen und bewegen sich darin als „freie Seitenketten“ oder, was bei der von Ehrlich vorausgesetzten Identität ihrer bindenden Gruppen dasselbe ist, als Gegengifte oder Antitoxine. Diese bedingen, indem sie neuzutretende, selbst tödliche Gaben desselben Giftes abfangen, einen spezifischen Schutz gegen das betreffende Gift, die Giftimmunität. Diese Auffassung Ehrlichs besticht durch ihre Einfachheit und durch ihre Analogie mit anderen Ersatz- und Heilungsvorgängen¹⁾ im Tierkörper. Sie läßt sich ferner, wie wir sehen werden (Kap. XVII § 327, 333, 334 ff.), auch anwenden zur Erklärung der übrigen Arten von spezifischer Immunität gegen infektiöse Erreger, andere Fremdzellen und andere Fremdstoffe — ferner zum Verständnis der Anpassung der Kleinwesen an das parasitäre Leben (§ 330), ja selbst zur Erklärung der sog. nicht spezifischen erworbenen Immunität, die auf Entzündungs- und Fieberreaktionen beruht (§ 331). Es fragt sich freilich, ob sich Ehrlichs Voraussetzung, die Identität der giftzuleitenden, antitoxinbildenden und-bindenden Gruppen unmittelbar beweisen läßt. Wir können hier auf die zur Stütze der „Seitenkettentheorie“ angeführten Tatsachen noch nicht ausführlich eingehen, weil sie Vorgänge betreffen, die sich im lebenden Tier abspielen (vgl. Infektions- und Immunitätslehre), wollen aber doch schon bemerken, daß sichere Beweise überhaupt nicht vorliegen. Namentlich der viel besprochene „Wassermannsche Versuch“, der das Vorkommen spezifischer tetanusgiftbindender, den Antitoxinen gleichgestalteter Seitenketten im Gehirn und Rückenmark beweisen soll, ist wahrscheinlich anders zu deuten, denn weder sind die Tetanusgift bindenden Stoffe des Gehirns spezifisch und den Antitoxinen gleich (s. o. § 274), noch darf man annehmen, daß das Tetanusgift überall im lebenden Nervensystem so gebunden wird, wie im Reagensglas vom toten, noch ist das Gehirn wohl die Stätte, wo das Tetanusantitoxin neu gebildet wird. Trotzdem darf man sagen, daß die Ehrlichsche Theorie mit einigen Änderungen an der ursprünglichen Form bzw. gewissen Zusatzhypothesen sich halten läßt und die Immunisierungs-

1) Der von Ehrlich gemachte Versuch, die Immunitätsvorgänge zu denen der normalen Ernährung in Beziehung zu setzen, indem die Seitenketten als „Fangapparate“ für Nahrungsstoffe gedacht werden, erscheint dagegen mißlungen (§ 68 und § 329).

erscheinungen besser als jede andere erklärt¹⁾. Zunächst ist es sicher und auch durch Ehrlich von Anfang an zugegeben, daß nicht bloß die eigentlichen giftempfindlichen Zellen des tierischen Organismus das Gift binden, sondern auch viele andere, und wahrscheinlich, daß gerade die wenig oder gar nicht für das Gift empfänglichen durch die Bindung mit dem Gift in erster Linie, wenn nicht ausschließlich, zur Antitoxinbildung angeregt werden und zum Teil durch „Giftablenkung“ den Impfschutz bewirken. Es wäre deswegen nicht ausgeschlossen, daß die Bindung der Gifte an die empfindlichen und an die antitoxinbildenden Zellen durch verschiedene Bindegruppen die wir als „giftzuleitende“ und „giftablenkende“ Gruppen bezeichnen könnten, verursacht würden. Nötig ist diese Annahme aber vorläufig nicht, da die Unempfindlichkeit gegen die Vergiftung ja auch durch Eigentümlichkeit der Zellen selbst, nicht durch die Verschiedenheit der Bindegruppen bedingt sein könnte. Wie dem auch sei, die teleologische Grundlage für die Antitoxinbildung bleibt auch in den giftunempfindlichsten ablenkenden Zellen bestehen, es erfolgt eben ein Ausfall von Protoplasmabestandteilen (Seitenketten), der ersetzt werden muß überall da, wo bindende Gruppen des Protoplasmas von Fremdstoffen besetzt werden. Daß eine stärkere Schädigung der Zellen dazu nicht nötig ist, sieht man ja auch an den Antikörpern, die gegen agglutinogene Bakterienstoffe, fremdes Eiweiß u. dgl. gebildet werden (§ 334 ff.). Von diesem Standpunkte aus wäre es verständlich, daß die Toxine auch immunisieren, wenn sie durch Verwandlung ihrer toxophoren Gruppe unschädlich geworden sind. In der Tat hat man das lange angenommen und seit den ersten Versuchen von C. Fränkel, Behring, Behring und Kitasato (1890) giftempfängliche kleine

1) Sonst in Betracht käme eigentlich nur die Theorie, welche die Immunkörper aus der Umwandlung der Impfstoffe (Antigene) selbst hervorgehen lassen möchte. Einige Beobachtungen, die in dem Sinne allenfalls gedeutet werden könnten, sind gemacht worden von Kruse und Bonaduce (Zieglers Beitr. 12. 368 Übergang der Milzbrandangriffsstoffe im Reagensglasversuche mit Blutserum in Schutzstoffe), Smirnow (Berl. klin. Woch. 1894 u. 1895) und Krüger (Deutsch. med. Woch. 1895, 21 Umwandlung der Gifte in Impf- und Schutzstoffe durch den elektrischen Strom), Emmerich und Löw (Zeitschr. f. Hyg. 31 und 36 Bildung von Immunproteidinen im Reagensglas). Vgl. auch Buchner (Münch. med. Woch. 1893. 380); Metschnikoff, (Immunität in Weyls Handb. d. Hyg. 9. 48 und „Immunität“, 1902 S. 303). Viel Staat ist aber mit diesen Ergebnissen nicht zu machen, da sie entweder nicht aufrecht zu erhalten sind oder andere Deutungen zulassen. Schließlich haben wir sonst für derartige Vorgänge keine chemischen Analogien. Man hat früher namentlich die Tatsache übersehen, daß jedes Gift- bzw. Impfstoffmolekül ein Vielfaches an Gegengiften bzw. Schutzstoffen erzeugt.

Tiere überhaupt nur mit künstlich durch mäßiges Erhitzen, Belichtung, Elektrizität, Chemikalien oder natürlich abgeschwächten, d. h. wie man auf Grund der von E h r l i c h u. a. später ausgeführten Bindungsversuchen annehmen durfte, toxoid- oder toxonhaltigen Giften schützen können. D r e y e r und M a d s e n ¹⁾ haben daraus gefolgert, daß auch die Immunisierung mit nicht völlig neutralisierten, d. h. zwar wesentlich ungiftigen, aber noch bindefähigen Gift-Antitoxinmischungen gelingen müsse. Bis zu einem gewissen Grade gelingt das auch. K r e t z ²⁾ u. a. haben ferner darauf hingewiesen, daß die höchsten Immunitätsgrade bei Pferden auch mit ziemlich stark abgeschwächten Diphtheriegiften erreicht werden. Andererseits bedient man sich wohl nicht ohne Grund mit Vorliebe in der Immunisierungspraxis besonders starker Gifte. Daß das Vorhandensein giftiger Bestandteile (der toxophoren Gruppe) in den immunisierenden Lösungen für den Erfolg nicht ohne Bedeutung sei, ja erst den eigentlichen „Immunisierungsreiz“ (ictus immunisatorius E h r l i c h und M o r g e n r o t h) abgebe, hat sogar B r u c k ³⁾ im Laboratorium W a s s e r m a n n s aus vergleichenden Versuchen, die er mit einer gänzlich ungiftigen Tetanusgiftlösung A und einer etwas giftigen B an Kaninchen angestellt hat, schließen wollen, da er mit ersterer nur Spuren von Antitoxin, mit letzterer große Mengen erzeugen konnte. Leider fehlt bei B r u c k zunächst schon der Vergleich der bindenden Kraft beider Lösungen, und auch manche sonstige Tatsachen lassen sich mit seiner Auffassung nicht recht vereinigen. Im allgemeinen hat ja doch die Erfahrung die Unabhängigkeit des Erfolgs von der Giftigkeit und den Parallelismus zwischen immunisierender und bindender Kraft bestätigt und das Fehlen der ersteren bei Mangel der zweiten (mag er nun durch zu starke Erhitzung, Verdauung⁴⁾, zu lange Einwirkung abschwächender Chemikalien u. dgl. oder durch vollständige und feste Bindung an Antitoxin⁵⁾

1) Zeitschr. f. Hyg. 37, 1901.

2) K r a u s' und L e v a d i t s Handb. 2. 27, 1908.

3) Zeitschr. f. Hyg. 46, 1904.

4) Macht die meisten Immungifte unschädlich (§ 274) und nimmt ihnen zugleich die Immunisierungsfähigkeit. Das Bindungsvermögen ist freilich nicht untersucht worden. Ausnahmen sind das Botulinusgift, Ruhrgift (C h v o s t e k, Wien. klin. Woch. 1908, 20), Rizin und Abrin (E h r l i c h, Deutsch. med. Woch. 1891) und Schlangengift (F r a s e r bei C a l m e t t e in K r a u s' und L e v a d i t s Handb. 2. 244), mit denen denn auch zum Teil eine Immunisierung durch Verfütterung gelingt.

5) Die Bindung muß nicht nur vollständig, sondern auch fest sein, d. h. lange genug bestehen. Daher ruft Diphtheriegift z. B. bei Pferden, die durch Serum passiv immunisiert wird, Antitoxinbildung hervor. Vgl. K r e t z, Zeitschr. f. Heilk. 23, 1902 und bei K r a u s und L e v a d i t s,

bewirkt sein) gelehrt. Möglicherweise erklärt sich also die schlechte Wirkung der ungiftigen Impfflüssigkeit in dem B r u c k schen Versuche durch das Fehlen anderer Stoffe oder anderer Seitenketten im Toxoidmolekül als gerade der toxophoren (s. u.).

Übrigens soll nicht verschwiegen werden, daß sich einige Angaben, die wir schon bei Fränkel¹⁾ finden, nicht mit der üblichen Ansicht von der Bedeutung der haptophoren Gruppen für die Immunisierung vereinigen lassen. Sollen doch, wenn auch nicht in so zuverlässiger Weise, große Mengen gekochten Diphtheriefiltrates Immunität hervorrufen. Durch die Siedehitze wird aber doch sowohl die toxophore wie die haptophore Gruppe zerstört.

In diesem Zusammenhange bemerkenswert erscheinen auch die Erfahrungen, die man mit anderen Impfstoffen gemacht hat (§ 327. 335 ff.).

Weder die Bildung von Bakteriolysin noch die von Agglutinin steht in völlig gesetzmäßiger Beziehung zu der Bindungsfähigkeit, welche die betreffenden Antigene zu ihren Immunkörpern im Reagensglas haben oder zu der aggressiven Wirksamkeit der Bakterien (Virulenz) und ihrer Produkte. Es kann z. B. Bindefähigkeit vorhanden sein und Immunisierungsfähigkeit fehlen und umgekehrt. Ob nicht unter Umständen auch ähnliches für die giftigen Antigene gilt? Jedenfalls wird man sich nach alledem hüten, die antitoxinbindende (haptophore) Gruppe und die antitoxinbildende (immunisierende) Gruppe der Gifte einfach zu identifizieren, sondern, um die Seitenkettentheorie zu retten, zu Hilfhypothesen greifen müssen, indem man entweder n e b e n den eigentlichen mit Bindegruppen ausgestatteten Molekülen besondere Stoffe oder i n i h n e n besondere Atomgruppen voraussetzen wird, die nach der einen oder anderen Richtung, d. h. fördernd oder hemmend die Bindung im Reagensglas²⁾ und neben der Bindung die Neubildung der den Immunkörper liefernden Zellen beeinflussen. Ja, man könnte geneigt sein, noch weiterzugehen und geradezu z w e i bindende Gruppen im Giftmolekül annehmen, von denen die eine „antitoxinbindende“, die Bindung im Reagensglas, die andere „antitoxinbildende“ (impfende, immunisierende), die Bindung in den antitoxinliefernden Zellen und damit die Antikörperbildung

2. 244, 1908. Selbst die feste Bindung soll allerdings nach K r e t z durch die Rezeptoren aktiv immunisierter Tiere aufgehoben werden. Vgl. aber das S. 899 darüber Gesagte.

1) Berl. klin. Woch. 1890. 49.

2) Auch die „Aviditäts“-Unterschiede der einzelnen Toxinbestandteile (Proto-, Deutero-, Tritotoxine usw.) kann man sich ja in ähnlicher Weise zustandegekommen denken (s. o. S. 846 ff. u. 856).

bzw. Giftimmunität bewirkten. Die Unmöglichkeit, durch neutrale und gefestigte Toxin-Antitoxinmischungen zu immunisieren, spräche nicht dagegen, denn durch die Bindung der einen Gruppe könnte die Wirksamkeit der anderen Gruppe ja ausgeschaltet werden. Einfacher und theologisch verständlicher ist freilich wohl eine der ersten Annahmen.

Wie man sieht, werden die Vorstellungen über den Bau der Immungifte immer verwickelter, je mehr man ihre einzelnen Eigenschaften in der von Ehrlich vorgeschlagenen Weise zu erklären sucht. Ob wir damit auf dem richtigen Wege sind, wird natürlich erst die Aufklärung der Giftzusammensetzung durch die chemische Analyse endgültig entscheiden. Vorläufig müssen wir aber zugeben, daß die Ehrliche Theorie die Erscheinungen der erworbenen spezifischen Immunität besser erklärt als jede andere und auch dadurch sich empfiehlt, daß sie die erworbene Immunität nur als einen besonderen Fall der Immunität im allgemeinen erkennen läßt. Wissen wir doch, daß auch im normalen Tierkörper, wenn auch hier in viel geringeren Mengen und vielleicht da und dort in etwas anderer Beschaffenheit und Form, Antitoxine und andere Antikörper spezifischer Natur vorkommen. Die erworbene Immunität steigert also nur die Abwehrkräfte, die dem Tiere angeboren oder von ihm auf nicht spezifischem Wege erworben worden sind (vgl. Infektions- und Immunitätslehre).

Über die Art und Weise, wie die Antitoxinbildung, die Vervielfältigung der Seitenketten zustande kommt, lehrt uns die Ehrliche Theorie nichts (vgl. § 68). Wir müssen uns damit begnügen, sie mit anderen Sekretionen oder Zellenneubildungen zu vergleichen¹⁾.

§ 280. **Endotoxine, sekundäre Gifte, Bakterienproteine. Entzündungs-, Fieber-, Darmgifte.** Schon bei Besprechung des Diphtheriebazillus (S. 831 ff.) haben wir gesehen, daß mit dem durch seine Wirkungen im Tier gut charakterisierten, im Filtrat der Kulturen leicht nachweisbaren, sehr kräftigen, hitzeempfindlichen Gifte die Giftigkeit dieser Bakterien noch nicht erschöpft ist, sondern daß auch seinen gekochten Kulturen und von dem Gift befreiten Bazillen selbst eine gewisse, allerdings meist viel schwächere Giftwirkung zukommt, die in verschiedener Weise beschrieben wird. Wir haben sie mit der durch andere Bakterien hervorgerufenen „Endotoxinvergiftung“ verglichen. Beim Choleraspirillum, wo sie zuerst genauer beschrieben worden ist, glaubte R. Pfeiffer scharf unterscheiden

1) Vgl. das auf S. 799 Gesagte über die von Kassowitz (Metabolismus und Immunität 1907) aufgestellte Theorie, die sich im übrigen an die Ehrlichen Vorstellungen anschließt.

zu müssen zwischen dem gegen alle schädlichen Einflüsse sehr empfindlichen, kaum in Lösung zu gewinnenden, schon in geringerer Menge wirksamen „primären“ Gift der Bakterienleiber und dem kochfesten Gift, das zwar unter denselben Erscheinungen (des sog. „Cholera-kollapses“), aber erst in viel (10—20 mal) größeren Gaben tötet, und das er *sekundäres* Gift nannte, weil er der Auffassung war, daß es aus dem ersten durch Hitzewirkung entstände. Im wesentlichen dieselben Dinge meint *Gamaleia* (§ 284), wenn er beim Cholerabazillus von einem hitzeempfindlichen „Nukleoalbumin“ und einem hitzebeständigen „Nuklein“ des Cholerabazillus spricht. Ähnliches beobachtet man bei den meisten Leibesgiften der Kleinwesen. Denn sehr gewöhnlich wird denselben durch das Kochen ein Teil ihrer Wirkung geraubt, ohne daß die Art der Wirkung selbst sich wesentlich änderte, doch sind die Unterschiede vielfach sehr unbedeutend; man hat daher auch die Endotoxine als *hitzebeständig* bezeichnet im Gegensatz zu den Ektotoxinen, die meist hitzeempfindlich sind. Eine zweite Eigenschaft der Leibesgifte sollte in der *Unmöglichkeit* bestehen, gegen sie *Immunität* bzw. *Antitoxine* zu erzeugen. Wenn man statt Unmöglichkeit *Schwierigkeit* sagt, und zwar von einer Regel spricht, die aber Ausnahmen zuläßt, so kann man damit sich einverstanden erklären.

Eine dritte Eigenschaft der Endotoxine, die ihnen ihren Namen verschafft hat, besteht darin, daß sie den Leibern der Kleinwesen mehr oder weniger fest anhaften und aus ihnen sowohl durch künstliche Behandlung — als „Bakterienextrakte“ — als auch auf natürlichem Wege in alten Kulturen als „ausgelaugte Bestandteile“ oder „Zerfallsprodukte“ der Leiber gewonnen werden können. Wir haben aber früher schon gesehen (§ 272), daß dieses Merkmal gegenüber den Ektotoxinen, die als von den bildenden Zellen freiwillig ausgeschiedene Sekrete betrachtet werden, mehr praktisch, d. h. für ihre Darstellung bedeutungsvoll als wissenschaftlich wertvoll ist.

Die wesentliche Eigenschaft der Endotoxine liegt wohl in ihren physiologischen Wirkungen auf den Tierkörper. Sie rufen nicht nur — in großen Mengen und an besonders wirksamen Stellen (Bauchhöhle, Blut) verabreicht — schwere allgemeine Vergiftungserscheinungen (Kollaps) hervor, sondern verursachen auch Entzündung und Fieber sowie Störungen in einzelnen Organen¹⁾, namentlich im Darm, und bei schleichender Wirkung Schwäche und Abmagerung.

Schon bevor die meisten der hier genannten Erfahrungen gemacht worden waren, hatten *Wyssokowitsch* und dann in umfang-

1) Über Organgifte vgl. § 318.

reicherem Maßstabe H. Buchner¹⁾, ausgehend von den Studien Pasteurs, Grawitz', Lebers, Scheuerlens, Fehleisens, Charrins über die chemischen Ursachen der Eiterung und von den Beobachtungen Emmerichs, Pawlowskys u. a., daß man mit Hilfe verschiedener wenig virulenter Bakterien Entzündungen verursachen und zugleich Infektionen bekämpfen könne, gezeigt, daß nicht bloß die echten Eiterbakterien, sondern auch alle möglichen anderen Infektionserreger und Saprophyten, wenn man sie durch stundenlanges Kochen abtötet und in Aufschwemmungen Kaninchen, Meerschweinchen usw. unter die Haut spritzt, Entzündung, Eiterung und fieberhafte Allgemeinerscheinungen erzeugen²⁾. Dahin gehören Staphylokokken und Sarzinen, der Bac. pneumoniae (Friedländer), der Bac. pyocyaneus, sporenfreie Milzbrandbazillen, der Typhus-, Heu-, Kartoffelbazillus. Es gelang Buchner dann, das wirksame Gift aus den Bakterienleibern darzustellen, indem er sie durch stundenlanges Kochen mit 0,5 prozentiger Kalilauge auszog, durch Papier filtrierte, sie durch vorsichtiges Ansäuern fällte, und das Gift durch Wiederholung des Verfahrens reinigt. Nach ihrer chemischen Reaktion und Darstellungsweise betrachtet er die wirksame Substanz als Albuminat und nannte sie „Bakterienprotein“ (vgl. S. 63). Später zeigten Römer³⁾ und Buchner⁴⁾ selbst, daß sich die Ausbeute an wirksamer Substanz steigern läßt — bei manchen Arten bis zu $\frac{4}{5}$ des gesamten Trockengehalts der Bakterienzelle —, wenn man die Bakterien scharf trocknet und nachher längere Zeit einfach mit destilliertem Wasser auskocht. Der in diesen „Bakterienextrakten“ erhaltene und durch Porzellan filtrierbare Eiweißkörper unterscheidet sich von dem „Protein“ dadurch, daß er nicht mehr durch schwaches Ansäuern ausgefällt wird. Schon in kleinen Gaben rufen diese auf die eine oder andere Weise hergestellten Gifte bei Tieren, beim Menschen sogar in Gaben von einigen Milligramm und weniger erysipelartige Entzündungen, Beschleunigung der Lymphabsonderung, Leukozytose und Fieber hervor. Echte Eiterung läßt sich mit ihnen — wahrscheinlich, weil sie sonst zu schnell aufgesogen

1) Berl. klin. Woch. 1890, 10, 30 und 47. Über die Geschichte und die Bedingungen der Eiterung s. Infektionslehre.

2) Nebenher machte Buchner die seitdem nicht weiter verfolgte bemerkenswerte Beobachtung, daß die Wirkung der Pneumobazillen, mit denen er hauptsächlich arbeitete, dadurch sich aufheben ließ, daß man die Bakterienkörper mit Anilinfarben (Methylviolett) tränkte. Auch andere Farbstoffe scheinen giftwidrige Eigenschaften zu besitzen (S. 879).

3) Berl. klin. Woch. 1891. 51.

4) Münch. med. Woch. 1891. 49.

werden — nur erzielen, wenn man sie in sehr erheblichen Mengen einspritzt oder sie in kapillaren Glasröhrchen wirken läßt (s. u.).

In größeren Mengen und bei wiederholter Einverleibung unter die Haut töten die Bakterienproteine ebenso wie die toten Bakterienleiber nach Wochen unter starker Abmagerung; um Tiere, namentlich Meerschweinchen, binnen 24 Stunden zu töten, muß man ihnen sehr große Gaben — etwa 0,5—2⁰/₀₀ des Körpergewichts in trockener Form — am besten in das Bauchfell oder das Blut einspritzen. Die Vergiftungserscheinungen bestehen in *Temperaturabfall* bis zu 30° und weniger, *lähmungsartiger Schwäche*. *Hypoleukozytose*, kurz, sie ähneln durchaus dem, was man auch als „Endotoxinvergiftung“ bezeichnet hat (s. o. und bei Cholera, Typhus, Ruhr usw.).

Eine interessante Nebenwirkung der Bakterienproteine beobachtet man an tuberkulösen Tieren: sie rufen nämlich bei ihnen ähnliche örtliche und allgemeine Reaktionen hervor wie das Tuberkulin (§ 304)¹⁾. Da man ähnliche Wirkungen auch durch nicht bakterielle Eiweißkörper, besonders durch Deuteroalbumosen und Peptone aus künstlichen Verdauungsgemischen, Nukleinsäure usw. hervorrufen kann²⁾, so hat man die Tuberkulinreaktion für eine einfache „Protein- oder Albumosenreaktion“ erklärt. Doch sind quantitative Unterschiede nicht zu verkennen (§ 304). Namentlich beim tuberkulösen Menschen braucht man viel größere Gaben, als von dem Tuberkulin. Auch gibt Buchner selbst an, daß die tödlichen Gaben bei Einverleibung von Bakterienprotein ungefähr gleich sind für tuberkulöse und nicht tuberkulöse Tiere. Beim Tuberkulin ist das nicht der Fall, man wird daher dieses letztere Gift nicht mit den übrigen kochfesten Bakterienprodukten völlig gleichstellen dürfen. Das gleiche gilt für das *Mallein*, dessen Wirkungen auf an Rotz erkrankte Tiere auch durch Bakterienproteine erhalten werden können (§ 305). Wahrscheinlich hat man es hier mit einer Form der sog. Überempfindlichkeit gegen Gifte, die in hohem Grade spezifisch ist, zu tun (§ 344).

Die gründliche Erörterung der Entzündungs- wie der Fiebererscheinungen, die beim Tiere und noch deutlicher beim Menschen nach Einführung der Bakterienproteine und -extrakte eintreten, müssen wir auf die Infektionslehre verschieben. Es sei hier nur erwähnt, daß die Entzündung ein sehr verwickelter Vorgang ist, bei dem Wirkungen

1) Vgl. außer Buchner noch Gärtner und Römer, Wien. klin. Woch. 1891. 45; G. Klempner, Zeitschr. klin. Med. 20, 1892; Schattenfroh, Zeitschr. f. Hyg. 18, 1894; Matthes, Arch. f. klin. Med. 54, 1895; Krehl und Matthes, Arch. f. exper. Path. 36, 1895.

2. S. namentlich Matthes a. a. O.

auf das Gewebe selbst, Gefäße, Nerven und namentlich die *Wanderzellen* eine Rolle spielen. Am ehesten zugänglich der Prüfung erscheinen die letzteren, weil man den Versuch wagen könnte, mit ihnen auch im Reagensglas zu arbeiten. Jedoch ergeben sich nach unseren Erfahrungen dabei größere methodische Schwierigkeiten, als man gewöhnlich annimmt. Ein von *Pfeffer* für die Untersuchung der chemischen Bewegungsreize der Pflanzenzellen zuerst angewandtes und dann von *Leber*, *Massart* und *Bordet*¹⁾, *Gabritschewsky*²⁾ und *H. Buchner* für die Leukozyten benutztes Verfahren besteht (s. o.) darin, daß man Glaskapillaren mit den Bakterienstoffen füllt, an einem Ende schließt und unter die Haut, in die Bauchhöhle, die vordere Augenkammer usw. einbringt. Aus der Anwesenheit und der Länge des Leukozytenpfropfes, der sich nach einigen Stunden oder später an dem offenen Ende der Glasröhrchen bildet, hat man auf das Vorhandensein von Leukozyten anlockenden („positiv chemotaktischen“) Stoffen geschlossen. Nach *Sicherer*³⁾ soll man ähnliche Erfolge haben, wenn man die Kapillarröhrchen in künstlich hergestellte Leukozytenaufschwemmungen einsenkt. Nachprüfungen, die *Bürgers* und *Hösch*⁴⁾ in meinem Laboratorium anstellten, haben aber die Unzuverlässigkeit beider Methoden ergeben. Man ist meines Erachtens zur Feststellung der Chemotaxis ausschließlich auf die Beobachtungen der frei in dem tierischen Gewebe erfolgenden Vorgänge angewiesen. Besonders die an dem gefäßlosen Gewebe der *Hornhaut* angestellten Versuche *Lebers* und *Ribberts* sprechen denn auch klar genug für das *Vorhandensein* *leukozytenanlockender* Stoffe in den Bakterien- und Pilzleibern (vgl. Infektionslehre) und gestatten, der positiven Chemotaxis (*Leukotaxis*) eine wichtige Rolle bei der Entstehung dieser Erscheinung zuzuschreiben. Eben diese Versuche dienen aber auch dazu, eine zweite, der ersten entgegengesetzte Eigenschaft der Proteine, eine abstoßende, hemmende, „negativ chemotaktische“ Wirkung auf die Leukozyten zu verdeutlichen. In vielen Fällen, namentlich wenn man die Proteine in konzentrierter Form verimpft, macht nämlich die Zuwanderung der Leukozyten in einer gewissen Entfernung von der Impfstelle Halt, und es bildet sich ein *Leukozytenwall* um die letztere. Weniger deutlich sind nach unseren Erfahrungen diese Erscheinungen, wenn man statt in die Hornhaut in gefäßhaltiges Gewebe, z. B. in die

1) Journ. soc. roy. scienc. méd. Bruxelles 1890; Annal. Pasteur 1891.

2) Ebenda 1890.

3) Münch. med. Woch. 1896. 41.

4) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 2. 70, 1909.

B a u c h h ö h l e impft. Dann erfolgt früher oder später die Zuwanderung von Leukozyten, aber nur im Falle, daß man nicht zu große Gaben anwendet, und zwar um so schneller, je kleiner die Gabe ist. Bei größeren Gaben bleiben zunächst die Leukozyten aus, es bildet sich ein seröses, manchmal etwas blutiges Exsudat, und erst später wird dieses mit Leukozyten bevölkert. Größte Gaben töten endlich, ehe die Umwandlung des serösen in ein eitriges Exsudat erfolgt. Man könnte auch hier die Erklärung für das Ausbleiben der Leukozytenzuwanderung in einer negativen Chemotaxis suchen, wenn man nicht mit einer Beeinflussung der Gefäße, die unter Umständen auch die Auswanderung verhindern könnte — durch Beschleunigung des Blutstroms —, rechnen müßte. Versuche haben es uns jedoch wahrscheinlich gemacht, daß die negative Chemotaxis mindestens mitspielt, denn spritzt man eine konzentrierte Proteinlösung in eine Bauchhöhle, deren Leukozytengehalt durch vorherige Behandlung mit Aleuronatlösung oder dergleichen erhöht ist, so verschwinden die Leukozyten aus dem Exsudat und lagern sich auf das Netz und die Wände der Bauchhöhle ab (vgl. § 322 u. 331).

Das Zustandekommen des Fiebers und der übrigen Allgemeinerscheinungen, unter denen namentlich die Hyperleukozytose zu erwähnen ist, können wir an dieser Stelle erst recht nicht ausführlich besprechen, wiederholen aber, daß es ebenfalls von der Höhe der Proteingabe abhängig ist, denn große Gaben erzeugen kein Fieber und keine Hyperleukozytose, sondern ein Sinken der Temperatur bis zum Tod im Kollaps und Hypoleukozytose d. h. die „Endotoxinvergiftung“.

Wir haben bisher öfter mit B u c h n e r von Bakterienproteinen gesprochen, müssen aber zugeben, daß die Eiweißnatur der in den Bakterienextrakten wirksamen Stoffe wie bei den übrigen Bakteriengiften in Frage gestellt werden kann. Schon die von uns u. a. sicher festgestellte Tatsache, daß Bakterien derselben Art (z. B. Ruhrbazillen, Cholerabazillen) ungleich giftige Extrakte geben können, obwohl ihr Gehalt an Eiweißstoffen im wesentlichen gleich ist, spricht dafür, daß der wirksame Stoff dem Bakteriengift nur beigemischt ist. C e n t a n n i¹⁾ machte den Versuch, diese Stoffe zu gewinnen, indem er die zunächst in ähnlicher Weise wie oben hergestellten wässerigen Bakterienextrakte filtrierte, zu Sirupdicke einengte, mit absolutem Alkohol fällte, in Wasser aufnahm und unter Zusatz von Chloroform und Thymol der Dialyse gegen destilliertes Wasser unterwarf. Das Wasser, das nach 24 Stunden verhältnismäßig reich war an Salzen und Farbstoffen, wurde dann weggegossen, alle paar Tage erneuert, die neuen Zusätze

1) Deutsch. med. Woch. 1894. 7/8.

aber vereinigt, auf einen sehr kleinen Rauminhalt eingedampft, mit Alkohol gefällt, der Niederschlag wieder gelöst und durch mehrmalige Fällung mit Alkohol und darauffolgende Lösung weiter gereinigt. Das so gewonnene *Pyrotoxin* oder „Fiebergift“ ist grauweiß, zieht das Wasser sehr schnell an, ist darin, in Glyzerin und in Alkohol bis zu 90% löslich, nicht in reinem Alkohol, Äther und Chloroform; es ist kein Eiweißstoff, denn es gibt keine der bekannten Farbreaktionen, wird durch Pepsin oder Trypsinverdauung nicht verändert; es ist ferner kein Xanthinkörper, denn es wird durch Bleiessig gefällt; von den Alkaloidreaktionen gibt es die meisten, wird aber von Platinchlorid, Goldchlorid, schwefelsaurer Ammoniakmagnesia, starken Säuren und Basen nicht niedergeschlagen. Über die chemische Natur des Pyrotoxins ist also fast nur Negatives zu sagen. Die physiologischen Wirkungen sind nach *Centanni* dieselben, wie die der Bakterienproteine, vor allem erzeugt es Fieber mit allen seinen Erscheinungen, Entzündung und Eiterung, Diarrhöe (s. u.) und Abmagerung. Von allen Bakterien, ob pathogenen oder nicht pathogenen, wird es erzeugt, doch kann man aus der Arbeit *Centannis* nicht ersehen, ob er aus allen Bakterien, die er aufzählt, auch das Gift in derselben Weise dargestellt hat, oder ob er seine Schlüsse aus den Tierversuchen, die mit den abgetöteten Bakterien oder ihren Extrakten angestellt sind, zieht. Auch macht *Centanni* keine Angaben über die tödlichen Gaben¹⁾ seines reinen Giftes und über die Mengen, in denen es erzeugt wird, sondern spricht nur davon, daß er keine Methode kenne, um es vollständig zu gewinnen.

Sind wir nun aber durch die Untersuchungen *Centannis* über das Fiebergift erheblich weitergekommen? Wir möchten es bezweifeln. Zunächst schon aus dem Grunde, weil es fraglich ist, ob das Pyrotoxin in den Bakterien als solches vorgebildet ist. Das Verfahren zu seiner Gewinnung ist schon sehr eingreifend und genügend, die Körpergifte der Bakterien teilweise zu zerstören. Man bekommt den Eindruck, als ob die wirksamen Stoffe in den toten Bakterien und den gewöhnlichen Endotoxinpräparaten (§ 272) in weit kräftigerem Zustand oder mindestens in viel größeren Mengen enthalten seien. Vielleicht handelt es sich bei dem Pyrotoxin nur um Abspaltung gewisser Bestandteile (Seitenketten) aus dem ursprüng-

1) *Voges* (Zeitschr. f. Hyg. 17. 480, 1894) hat mit 0,3 g eines genau nach *Centanni* dargestellten Pyrotoxins des *Bac. prodigiosus* (von *Uchinsky-Agar*) beim Meerschweinchen von 300 g (vom Bauchfell aus?) zwar Krankheiterscheinungen (Kollapstemperatur), aber nicht den Tod erzielen können. Danach wäre die Wirkung des reinen Giftes also kaum kräftiger als die der unverarbeiteten Bakterienleiber.

lichen Gift. Daraus würde sich seine verhältnismäßig bedeutende Diffundierbarkeit erklären. Möglicherweise beginnt eine solche Substanzveränderung schon bei dem durch weniger starke Eingriffe verursachten Übergang von dem primären Zustand des Endotoxins in den sekundären (s. o. S. 908). Daß das ursprüngliche Leibesgift ein echter Eiweißkörper sei, brauchen wir darum noch nicht anzunehmen. Seine chemische Natur ist uns vielmehr, ebenso wie die der Ektotoxine, noch unbekannt.

Zu einem ähnlichen Schlusse führen die Erfahrungen, die beim Studium einer anderen physiologischen Wirkung der Endotoxine gemacht worden sind. Daß Fäulnisbakterien für Darm (und Nerven) von Fleischfressern eine eigentümliche Giftigkeit besitzen, haben wir schon bei Besprechung der „putriden Intoxikation“ bzw. Sepsinvergiftung gesehen (§ 259). Die von mir mit Selter¹⁾ ausgeführten Untersuchungen lehrten dann folgendes: nicht nur „Fäulnisbakterien“, sondern auch Dysenterie-, Pseudodysenterie-, Typhus-, Paratyphus-, Prodigiosusbakterien usw. verursachten durch ihre Leiber bzw. Leibesextrakte ganz ähnliche Krankheitsercheinungen, d. h. nach Einspritzung in das Blut von Fleischfressern (Hunden) plötzliche Störungen des Kreislaufes, des Brechzentrums und des Bewußtseins und im Anschluß daran blutige Entzündungen des Magendarmkanals, die sich mit Vorliebe auf den Zwölffinger- und Dickdarm beschränken und später zu Nekrosen führen können. Das Studium der Literatur zeigt aber, daß andere Forscher auch Cholera-²⁾ und Diphtherie-³⁾, Proteus-⁴⁾, Colibazillen⁵⁾ und Streptokokken⁶⁾ u. a.⁶⁾ ähnliche Wirkungen zugeschrieben haben, ohne sie aber meist zu der Sepsinvergiftung in Beziehung zu bringen. Offenbar handelt es sich um dieselben nicht spezifischen Erscheinungen, die nicht mit der spezifischen Dysenterievergiftung bei Kaninchen (§ 289) verwechselt werden dürfen. Man könnte hier also um so eher von einer Endotoxinvergiftung des Fleischfresserdarms sprechen. In der Tat bleiben die Erscheinungen die gleichen, wenn man die Bakterien bzw. die daraus hervorgegangenen Stoffe auf 100° erhitzt. Immer-

1) Zeitschr. Immunitätsforsch. 5. 492, 1910.

2) Klemperer s. § 284.

3) Courmont und Doyon s. unter 6.

4) Levy s. § 300.

5) Celli s. § 288.

6) Vgl. bei Artaud Toxines microbiennes. Paris 1895. Teissier und Guinard Arch. experim. méd. 1897.

un scheinen größere Gaben nötig zu sein, um die gleichen Wirkungen zu erzielen. Eine genaue Angabe über das Maß der Abschwächung der Darmgifte durch die Siedehitze wird durch die ungleiche Empfänglichkeit der Hunde sehr erschwert, ebenso ein Vergleich der Darmgifte einzelner Bakterien. Nach unseren Erfahrungen scheinen aber doch zum Teil recht erhebliche Unterschiede zu bestehen. Auch bei den gewöhnlichen pflanzenfressenden Versuchstieren werden durch zahlreiche Bakterien bzw. deren Extrakte Darmerscheinungen hervorgerufen (s. o. z. B. B u c h n e r und C e n t a n n i), sie sind aber nicht so charakteristisch wie die oben beschriebenen, weil meist die Blutungen und auch häufig Durchfälle fehlen¹⁾. Über die chemische Natur dieser „Darmgifte“ der Bakterien wissen wir ebensowenig wie über die der Endotoxine überhaupt. Man könnte freilich geneigt sein, das Darmgift mit dem Sepsin von Bergmann und Schmiedeberg, dessen Bau F a u s t neuerdings aufgeklärt hat (S. 816), zu identifizieren, weil die physiologischen Wirkungen übereinstimmen. Wahrscheinlicher dünkt uns aber auch hier wieder, daß das Sepsin nur ein Spaltungsprodukt des echten Darmgiftes bzw. Endotoxins ist. Bemerkenswert genug bleibt seine Entdeckung immerhin, weil sie uns einen ersten Einblick in den chemischen Bau der Eigengifte zu liefern scheint.

Wenn uns somit die hier besprochenen mehr oder weniger eingreifenden Darstellungsmethoden der Bakterienproteine, des Pyrotoxins und Sepsins nur unvollkommenen Ersatz bieten für das ursprünglich im Leibe der Bakterien enthaltene Gift, so müssen wir zu den in § 272 aufgeführten schonenderen Verfahren zu seiner Darstellung zurückkehren. Benutzen wir z. B. das mehrstündige Ausziehen der Bakterienleiber bei Temperaturen von etwa 60°, das sich wegen seiner Einfachheit am meisten empfiehlt, so zeigen sich große Unterschiede in der Wirksamkeit dieser Extrakte bei den einzelnen Bakterienarten. Bakterien, die in älteren Kulturen leicht zerfallen, wie *Pyocyaneus*-, Cholera-, aber auch Typhus-, Ruhr-, Colibazillen liefern kräftige, Heu-, Milzbrand-, Staphylo-, Streptokokken, Tuberkelbazillen sehr schwache Giftlösungen. Sieht man sich die beiden Gruppen von Bakterien an, so bemerkt man, daß die erste die g r a m n e g a t i v e n, die zweite die g r a m - oder s ä u r e f e s t e n enthält. Uns scheint das kein Zufall zu sein, sondern in der Natur der gram- und säurefesten Keime begründet zu liegen, daß sie ihre Leibesbestandteile schwerer nach außen abgeben, weniger gut löslich sind (vgl. S. 44). Erst stärkere Eingriffe, wie lange dauernde Wirkung hoher Temperaturen u. dgl.,

1) Dagegen fällt ein nach einiger Zeit auftretender D a r m p r o - l a p s bei Meerschweinchen auf.

gestatten auch aus den säurefesten Bakterien die Endotoxine in Lösung zu bringen (vgl. Tuberkulin § 304). Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhange auch die Beobachtung C e n t a n n i s , daß Milzbrand- und Heubazillen v o r d e r S p o r e n b i l d u n g Fiebergift enthalten sollen, nachher nicht mehr. Wahrscheinlich wird der wirksame Stoff bei der Bildung der Sporen in diese eingeschlossen und kann aus ihnen wegen der Widerstandsfähigkeit ihres Körpers nicht mit dem gewöhnlichen Verfahren freigemacht werden¹⁾.

Nach diesen Erfahrungen wird man erwarten dürfen, daß die Endotoxine auch im Tierkörper erst frei werden und dadurch Entzündung, Fieber, in großer Menge Kollaps und Darmerscheinungen, bei schleichender Wirkung Abmagerung und Schwäche erzeugen werden, wenn die Bakterien, die sie enthalten, der Auflösung verfallen, und daß diese Wirkungen um so deutlicher hervortreten, je schneller der Zerfall vor sich geht. Indessen fragt es sich doch, ob eine vollständige Auflösung der Bakterienleiber, die natürlich ohne ihr Absterben nicht denkbar wäre, notwendig voraussetzen ist, um die Endotoxinvergiftung zu erklären. Mindestens könnte man sich ganz gut vorstellen, daß die Auflö u n g nicht alle infizierende Bakterienindividuen trifft, sondern daß nur ein Teil den keimwidrigen Körperkräften zu erliegen braucht, während der andere Teil am Leben bleibt und unter Umständen weiterwächst (vgl. S. 751). Es wäre aber nicht ausgeschlossen, daß Endotoxine auch durch lebende Keime, die unter dem Einfluß der Abwehrkräfte des Körpers zwar in gewisser Weise g e s c h w ä c h t , aber nicht vernichtet werden, also nach Art eines Sekretes ausgeschieden würden. Beobachten wir doch gerade mit Vorliebe auch bei ganz frischen Infektionen Entzündung und Fieber und bei tödlichen Infektionen Kollapserscheinungen, ohne daß wir imstande wären, als Ursache dafür absterbende Bakterien nachzuweisen.

Sind im vorstehenden schon manche Fragen angedeutet, die der endgültigen Beantwortung harren, so kommen noch einige weitere hinzu. Daß die Endotoxine der Bakterien trotz aller Ähnlichkeit im ganzen doch in ihrem Bau, ihrer Bildungs- und Wirkungsweise voneinander Verschiedenheiten aufweisen können, ist wohl selbstverständlich, ebenso daß ihnen öfters Ektotoxine mit eigentümlichen Leistungen beigemischt sind. Bei den „spezifischen“ Entzündungen²⁾ (Diphtherie.

1) Vor kurzem habe ich ein Endotoxin durch dreistündiges Erhitzen bei 120° auch aus sporenhaltigen Milzbrandfäden gewinnen können. Es waren 260 mg der trockenen Sporenmasse nötig, um ein Meerschweinchen von 260 g binnen 24 Stunden zu töten (vgl. § 292).

2) Auch das Fiebergift kann spezifisch sein, so erzeugt nach K r e h l (Arch. experim. Path. 35) das Diphtheriegift Fieber und verliert seine fieberrerregende Wirksamkeit wie zu erwarten durch Kochen.

ysenterie, Rauschbrand, malignes Ödem) wird davon weiter die Rede sein (vgl. § 332). Zweifelhaft ist es dagegen noch, ob wir es in den Endotoxinen jeder einzelnen Art mit einem einheitlichen Stoff zu tun haben, ob namentlich die anscheinend entgegengesetzten physiologischen Leistungen, die positive und negative Chemotaxis, die Erzeugung von Fieber- und Kollapstemperaturen, mit anderen Worten die nützlichen Reizwirkungen“ und die eigentlichen Giftwirkungen auf die gleichen Stoffe zurückführen. Die Möglichkeit, diese verschiedenen Erscheinungen durch ungleiche Menge und Dichtigkeit derselben Stoffe zu erklären, wird zwar von vornherein nicht bestritten werden können. Der sichere Beweis, daß dem wirklich so ist, bleibt aber noch zu liefern (vgl. § 322 und 331).

Eine weitere Frage ist die nach dem Verhältnis der fieber- und entzündungserregenden Stoffe, die nicht bakteriellen Ursprungs sind, zum Endotoxin der Bakterien. Es gibt bekanntlich auch ein aseptisches Fieber, das durch zahlreiche organische Stoffe hervorgerufen werden kann¹⁾. Gesprochen haben wir schon oben von der tuberkulinähnlichen Wirkung der Albumosen, Peptone, Nukleinsäuren; Buchner hatte ferner schon früh die entzündungserregende Eigenschaft des Pflanzenkaseins, des aus Fleisch und anderen Organen dargestellten Kalkalbuminats, des Leuzins und Glykokolls erkannt. Daß bei der Resorption von Blutergüssen und anderen abgestorbenem Gewebe, bei Transfusion von Blut Fieber entstehen kann, auch wo jede Bakterienbeteiligung auszuschließen ist, ist lange bekannt. Die neueren Erfahrungen über Giftigkeit von Blutserum und allen möglichen anderen Gewebebestandteilen gehören ebenfalls hierher. Die Giftigkeit von Enzymlösungen²⁾ wurde schon früher erwähnt. Zum Teil erhält man mit ihnen auch die oben beschriebenen Darmerscheinungen.

Wie man sieht, sind es hier nicht nur „körperfremde“ Stoffe, wie die der Bakterien es ja auch sind, sondern auch Bestandteile des eigenen Körpers, die unter Umständen giftig werden können. Es scheint sich dabei regelmäßig um Stoffe zu handeln, die durch den Zerfall von Zellen frei werden. Da nun derartige Zerfallsvorgänge auch durch Mikroorganismen verursacht werden können (vgl. z. B. Hämosine § 317), so wird das Fieber bei manchen Infektionen sich vielleicht auf diese Weise am besten erklären können. Es ist möglich, daß z. B. die Fieberanfälle bei der Malaria, die jedesmal mit dem Zerfall von Blutkörperchen zusammenfallen, so zu deuten sind. Viel-

1) Vgl. z. B. Krehl a. a. O.

2) H ü p p e (Berl. klin. Woch. 1892. 17) betrachtet die Endotoxinvergiftung geradezu als Vergiftung mit proteolytischem Enzym.

leicht wird sogar ganz regelmäßig ein Teil der Fieber- und Entzündungsstoffe, die bei Infektion zur Wirkung gelangen, von dem eigenen Körper geliefert. Unsere Kenntnis von diesen Vergiftungen steckt, wie man sieht und wie auch aus den folgenden erhellt, noch in den Anfängen.

Eine Immunisierung gegen sekundäre Gifte ist bisher nur unvollkommen gelungen. Doch haben fremde Erfahrungen bei Cholera-, Typhus- und eigene bei Dysenteriebazillen gezeigt, daß man ein Serum gewinnen kann, das eine mehrfach tödliche Gabe toter Leiber oder deren Extrakte neutralisiert. Vielleicht macht man bei genauerem Zusehen auch sonst ähnliche Beobachtungen. Sehr häufig beobachtet man bei Immunisierung großer Tiere eine allmähliche¹ Angewöhnung an die Leibesgifte der meisten Bakterien, z. B. auch an das Tuberkulin. Mit echter antitoxischer (Serum-)Immunität hat sie aber wohl nichts zu tun. In anderen Fällen entsteht das Bild der „Überempfindlichkeit“ oder Anaphylaxie (S. 793 u. § 344). Ob es die gleichen Stoffe sind, die das eine Mal die Endotoxinvergiftung und das andere Mal die Überempfindlichkeit bewirken, ist vorläufig nicht sicher zu sagen. Am besten ist es, zunächst die Scheidung aufrecht zu erhalten, obwohl neuerdings von manchen Forschern die Endotoxinvergiftung geradezu in nächste Beziehungen zur Vergiftung durch das „Anaphylatoxin“ gebracht worden ist. Ebenso wenig wissen wir Endgültiges über das Verhältnis der Endotoxine zu den Angriffsstoffen auszusagen, obwohl manche Tatsachen für die Verschiedenheit beider Stoffe sprechen (§ 321). Sicher ist aber, daß sie schon ihrer Darstellung nach in den Bakterienextrakten nebeneinander vorhanden sind. Das gilt auch von den verschiedensten Arten der Impfstoffe, zu denen die lysino-, tropino-, agglutino-, präzipitino-, reaginogenen außer den schon genannten anaphylaxogenen gehören (Kap. XVII). Schließlich sind auch noch die Weichardschen¹ „Ermüdungstoxine“ hier zu erwähnen. Weichardt selbst betrachtet sie als Abspaltungsprodukte aus den eigentlichen Giften bzw. eiweißartigen Stoffen überhaupt. Eine reinliche Scheidung aller dieser Stoffe zu bewirken, geht vorläufig über die Leistungsfähigkeit unserer Methoden.

§ 281. Die Eigengifte der einzelnen Bakterien. Tetanusgift. Im folgenden setzen wir die beim Diphtheriegift unterbrochene (§ 261—267) Beschreibung der einzelnen Bakteriengifte fort, verweisen aber auf die Bemerkungen der vorhergehenden Abschnitte.

Durch seine überaus kräftige und charakteristische Wirkung zeichnet sich das Tetanusgift vor allen anderen Giften aus. Um es

¹) Münch. med. Woch. 1904. 1 und 48; 1905. 26; 1906. 1 und 35; Zentr. Bakt. 43, 312, 1907; Über Ermüdungsstoffe, 1910.

zu erhalten, muß man sich in erster Linie den richtigen Bazillenstamm aussuchen. Zur Beförderung der Giftbildung werden als Zusätze zur gewöhnlichen Fleischpeptonbouillon empfohlen Gips, 1—2% Kochsalz, Blutserum, alte Tetanusbouillon, die Alkoholfällung alter Typhuskulturen oder gefaulter Fleischaufschwemmungen¹⁾. Zugaben von Glyzerin und namentlich von Traubenzucker sind schädlich, obwohl sie das Wachstum verbessern. Bei Reinkulturen ist strenge Anaërobie selbstverständlich, doch soll die Symbiose von Tetanusbazillen und Heubazillen bei Luftzutritt auch kräftige Toxine ergeben²⁾. Junge Kulturen sind häufig selbst in Gaben von 1 ccm unwirksam (v. H i b l e r ³⁾). Schon nach 1—2 Wochen kann man aber unter günstigen Umständen Kulturen bekommen, die filtriert oder infiltriert eine Maus in Gaben von 0,005 mg und sogar noch weniger (0,001 mg) töten⁴⁾. K n o r r ⁵⁾ und B e h r i n g ⁶⁾ haben die Empfänglichkeit der einzelnen Tiere für das Tetanusgift genauer festgestellt. Verhältnismäßig am empfänglichsten ist das Pferd, dann das Meerschweinchen und die Maus, viel weniger das Kaninchen und am wenigsten das Huhn. Wenn man die tödliche Gabe bei subcutaner Einspritzung für 1 g Maus gleich 1 setzt, so ist sie nach B e h r i n g für je 1 g Pferd $\frac{1}{12}$, Meerschweinchen $\frac{1}{6}$, Ziege 5, Kaninchen 150, Gans 1000, Huhn 30 000. Bei manchen Tieren, z. B. beim Kaninchen und Huhn, braucht man sehr viel geringere Gaben, wenn man sie in das Gehirn einspritzt, erzeugt freilich dabei ein anderes Krankheitsbild, den Tetanus cereбрalis⁷⁾. Vom Blut aus ist die Wirkung eher geringer, in nervenreichen Organen, z. B. Muskeln und den Nervenstämmen selbst, am größten, offenbar, weil das Gift durch die Nerven (Achsenzyylinder) zum Rückenmarke und Gehirn geleitet wird (vgl. Infektionslehre). Vom Darm aus erfolgt, selbst bei riesigen Mengen (1000—100 000 tödlichen Gaben) keine Wirkung, weil das Gift durch die Verdauungssäfte zerstört wird⁸⁾.

Das Tetanusgift hält sich schlecht in den Lösungen, es wird durch Erhitzen während 90 Minuten auf 55°, während 20 Minuten auf 60°, während weniger Minuten auf 65° zerstört, aber auch schon durch

1) B r i e g e r und C o h n, Zeitschr. f. Hyg. 15, 1893.

2) D e b r a u d, Annal. Pasteur 1900.

3) Untersuchungen über pathogene Anaëroben 1908.

4) B r i e g e r, Zeitschr. f. Hyg. 19, 1895; K n o r r, Experim. Untersuchung über Heilungsmöglichkeit des Tétanus usw. Habilitationsschr. Marburg 1895. Vgl. auch M a r x, Festschrift für K o c h 1903.

5) Münch. med. Woch. 1898. 11/12.

6) Fortschr. d. Mediz. 1899. 501.

7) R o u x und B o r r e l, Annal. Pasteur 1898.

8) C a r r i è r e, Annal. Pasteur 1899 mit Lit.

Temperaturen von 40° wesentlich geschädigt, wenn der Salzgehalt des Nährbodens ein höherer ist als gewöhnlich (S. 879). Recht haltbar ist das Tetanusgift dagegen im trockenen Zustande, den man am einfachsten nach wiederholter Fällung mit Ammoniumsulfat, kräftigem Ausdrücken und Eintrocknen auf Tontellern im Vakuum erreicht¹⁾. Um die im ersten Niederschlag noch reichlich vorhandenen Tetanus-sporen zu entfernen, zentrifugiert man die Lösung sehr kräftig, fällt noch einmal und wiederholt das Verfahren so lange, bis die Sporen nicht mehr in wahrnehmbarer Menge vorhanden sind.

B r i e g e r und seine Mitarbeiter (vgl. S. 825) haben durch ihre Methode trockene Gifte erhalten, die, abgesehen von der Biuretreaktion, keine Eiweißreaktion mehr gaben und in Mengen von 0,0001 mg Mäuse töteten. In hochgiftigen Kulturen, die keine Albumosen mehr enthalten, gelingt die Fällung durch Ammonsulfat nach B r i e g e r nicht mehr, wohl durch Uranazetat oder Ammoniumsulfat und Aluminiumsulfat (5%). Die Biuretreaktion läßt sich stark vermindern, aber nur selten gänzlich beseitigen; die reinsten Toxine enthalten übrigens noch immer ebenso viel Stickstoff wie Eiweißkörper. H a y a s h i ²⁾ konnte die Albumosenreaktion aus seinen Präparaten nicht entfernen und hält daher das Gift für eine Albumose. Auch das Tetanusgift verändert sich in alten Lösungen und durch chemische und physikalische Einflüsse (Toxoide!) und scheint auch in Form von Toxonen vorzukommen (S. 882). Ob es wirklich nur einen einzigen Giftkern enthält, wie B e h r i n g ³⁾ annimmt, ist doch wohl noch zweifelhaft⁴⁾.

Eine eigentümliche Abart des Tetanusgiftes, die zwar Krämpfe erzeugt aber nicht tötet, beschreibt W o l f f - E i s n e r ⁵⁾.

Der Nachweis des Tetanusgiftes im Körper vergifteter Tiere und Menschen ist nur möglich durch Verimpfung von Organen und besonders von Blut (0,2—1 ccm auf Mäuse), nur ausnahmsweise von Sekreten und Zerebrospinalflüssigkeit. Stammt das Blut aus gefaulten Leichen, so muß es filtriert werden⁶⁾. Verwechselungen mit anderen Krampf-giften, die aus dem normalen Körper dargestellt werden können, sind öfters vorgekommen, werden aber vermieden, wenn man daran denkt, daß das Tetanusgift eine Inkubationszeit braucht (M a r i e ⁷⁾). Die

1) B r i e g e r und F r ä n k e l vgl. S. 824; B u c h n e r, Münch. med. Woch. 1893. 24/25.

2) Arch. f. experim. Pathol. 47, 1901.

3) Beitr. experim. Ther. 7, 1904.

4) Vgl. H ü p p e, K o c h s Festschr. 1903.

5) Münch. med. Woch. 1906. 44.

6) S y m a n s k i, Zentr. Bakt. 30. 25.

7) Annal. Pasteur 1897.

auffassung, das langsam wirkende Gift verwandele sich im lebenden Körper in ein schnellwirkendes oder erzeuge ein solches erst fermentativ (Courmont und Doyon, Blumenthal), ist durch nichts bewiesen. Die Organe tetanischer Tiere enthalten das Gift in sehr ungleichem Maße, die der Kaninchen überhaupt nicht (Marie), ebenso gewöhnlich nicht das Gehirn und Rückenmark, am regelmäßigsten vielleicht noch die peripherischen Nerven, besonders derjenigen Gegend, die von dem Tetanus zuerst betroffen wird (Marie und Morax, Meyer und Ransom). Der Grund dafür liegt darin, daß die peripherischen Nerven das Gift zum Rückenmark und Gehirn leiten (s. o.). Umgekehrt erklärt sich die Ungiftigkeit des zentralen Nervensystems nicht etwa allein aus dem Umstand, daß es die Fähigkeit besitzt, das Tetanusgift so fest zu binden, daß es nachträglich im Tierversuch nicht mehr zur Wirkung gelangt (S. 877), sondern schon aus der Tatsache, daß es von den Blutgefäßen aus nicht in die Lymphe des Gehirns und Rückenmarks übergeht (Ransom).

Mit dem bisher besprochenen Krampfgift des Tetanusbazillus, dem „Tetanospasmin“, hat nichts zu tun ein zweites Gift, das Tetanolysin, das gewöhnlich gleichzeitig, aber in verschiedenen Mengenverhältnissen, mit dem ersteren in den Tetanuskulturen enthalten ist¹⁾. Eine Trennung beider Gifte ist dadurch möglich, daß man die Giftlösungen mit roten Blutkörperchen (Kaninchen, Ziege, Hammel, Pferd usw.) in Berührung bringt: das Tetanolysin bindet sich an diese und löst sie, das Tetanospasmin bleibt zurück. Die Verschiedenheit beider Gifte wird auch dadurch bewiesen, daß die hämolytische Wirkung sich in den Giftlösungen schneller abschwächt, als die krampf-erzeugende, und daß beide Gifte besondere Gegengifte bilden. Aus der Kultur läßt sich das Tetanolysin mit dem Tetanospasmin zusammen durch Ammonsulfat ausfällen. Über seine Wirkung im Reagensglas vgl. § 312. Bei der Tetanuserkrankung scheint das Lysin keine Rolle zu spielen²⁾.

§ 282. Wurstgift. Ein nur in toten Nährböden lebender, aber durch sein starkes Gift dem Menschen gefährlicher Bazillus ist der *Bac. botulinus*³⁾, die Ursache der Schinken- und Wurstvergiftung. Er schließt sich durch sein streng anaërobes Wachstum und die nervösen Störungen, die sein Gift bewirkt, an den Tetanusbazillus an. Zur Kultur benutzt man am besten Traubenzuckernährböden mit

1) Ehrlich, Berl. klin. Woch. 1898. 12. Ein lysinfreies Gift beschreibt Behring, Beitr. experim. Ther. 7, 1904.

2) Miyamoto, Deutsch. med. Woch. 1900. 30.

3) van Ermengem, Zeitschr. f. Hyg. 26, 1897 und in Handb. der pathogenen Mikroben von Kolle-Wassermann 2, 1903.

deutlicher alkalischer Reaktion, die Temperatur darf aber dabei 25° C nicht überschreiten. Filtrierte ältere Bouillonkulturen töten Kaninchen von der Unterhaut aus in einer Gabe von 0,3—1 mg, Meerschweinchen in solchen von 0,05—0,1 mg binnen 2—4 Tagen unter Lähmungserscheinungen, bei größeren Gaben (0,1—0,5 g) binnen einigen Stunden unter Lähmung, dyspnoischen Anfällen und Zuckungen. Katzen sterben nach Einspritzung großer Mengen unter dem echten Bilde des menschlichen Botulismus. Zum Unterschied von den meisten anderen Giften wirkt das Wurstgift auch vom Darmkanal aus, allerdings beim Kaninchen erst in größeren Gaben, bei Meerschweinchen, Mäusen und Affen in wenigen Tropfen.

In Schinken und Würsten bildet der Bazillus ebenfalls ein starkes Gift, das man durch Verfütterung an Mäuse und Meerschweinchen oder nach Filtrieren der wässerigen Auszüge durch Einspritzung nachweisen kann.

Statt der Filtrate lassen sich durch Toluol abgetötete Kulturen verwenden. Das Gift ist auch gegen andere Einflüsse als die Verdauungskräfte widerstandsfähiger als das Tetanusgift, läßt sich z. B. lange Zeit im Dunkeln und in zugeschmolzenen Röhrchen aufbewahren, wird aber auch durch Temperaturen von 60° stark geschädigt und durch halbstündiges Erhitzen auf 80° vernichtet. Gegen Alkalien ist es sehr, gegen Säuren wenig empfindlich. Aus den Kulturen bzw. Kulturfiltraten läßt es sich nach den von **B r i e g e r** beim Diphtheriegift zuerst angewandten Methoden durch Zinksulfat¹⁾ ausfällen und rein darstellen. Größere Tiere lassen sich gegen das Botulinusgift immunisieren. Außer dem spezifischen Serum wirkt auch die Substanz des Nervensystems, ferner Lezithin und Cholesterin giftwidrig (**K e m p n e r** und **S c h e p i l e w s k y** S. 877).

§ 283. **Rauschbrand und andere Anaërobiergifte.** Der **Rauschbrandbazillus** erzeugt nach neueren Forschungen ein starkes Gift, das wie die bisher besprochenen zu den immunisierenden gehört. Während frühere und spätere Forscher²⁾ den Rauschbrandbazillen meist nur eine geringe Giftigkeit zuschreiben, fanden **L e c l a i n c h e** und **V a l l é e**³⁾, daß sie in **M a r t i n s c h e r** Bouillon gezüchtet nach 5 Tagen ein kräftiges Gift erzeugen, das einfach durch Absetzenlassen

1) **B r i e g e r** und **K e m p n e r**, Deutsch. med. Woch. 1897. 33.

2) **R o u x** und **C h a m b e r l a n d**, Annal. Pasteur 1887; **K i t a s a t o**, Zeitschr. f. Hyg. 6 und 8, 1889—1890; **S a n f e l i c e**, Zeitschr. f. Hyg. 14. 383, 1893; **D u n s c h m a n n**, Annal. Pasteur 1894; **K i t t**, Handb. d. pathogenen Mikroben (**K o l l e - W a s s e r m a n n**) 1903; v. **H i b l e r**, Untersuchungen über pathogene Anaëroben, 1908 S. 245.

3) Annal. Pasteur 1900.

von den Bakterien befreit oder auch in Filtraten zu wenigen ccm Kaninchen und sogar Pferde vom Blut aus in einigen Minuten töten kann; Meerschweinchen erliegen, wenn ihnen Gaben von 5 ccm intraperitoneal verabreicht werden, binnen 12 Stunden unter starkem Temperaturabfall; an geringeren Mengen sterben sie erst nach einer Reihe von Tagen unter erheblicher Gewichtsabnahme. G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h ¹⁾ stellten dann durch Zusatz von gärfähigen Substanzen wie Traubenzucker und milchsaurem Kalk zu den Nährlösungen noch wirksamere Kulturen her, die filtriert Meerschweinchen von der Unterhaut aus in Mengen von 0,005—0,01 ccm, unter Umständen sogar in zehnfach geringeren Gaben binnen einigen Tagen unter starken örtlichen (hämorrhagisches Ödem!) und allgemeinen Erscheinungen töteten, auch für Kaninchen und große Tiere stark giftig waren, aber immer mit Inkubation wirkten. Die Angaben über die Widerstandsfähigkeit des Rauschbrandgiftes widersprechen sich ebenfalls. Die französischen Forscher halten es zwar für hitzebeständig, aber für sehr empfindlich gegen Sauerstoffzutritt, nach G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h genügt schon einstündige Erhitzung auf 50—60° zur Zerstörung des Gifts. In Filtern wird es zum großen Teil zurückgehalten. Die Verfasser benutzen daher die Filtration durch Papier und Watte. Karbolsäurezusatz wirkt sehr schädlich, weniger Formalin, am wenigsten Chloroform. Beim Lagern verliert es bald seine Wirksamkeit und zwar im Gegensatz zu dem Diphtheriegift auch seine Antitoxin bindende Kraft. Über die letztere vgl. S. 883 ff. Wahrscheinlich erklären sich die verschiedenen Angaben aus der großen Veränderlichkeit der Rauschbrandbazillen. Ebenso wie das Gärvermögen (§ 113) wechselt die Giftigkeit und Virulenz, und zwar wie so oft nach der Richtung hin, daß die Giftigkeit um so größer ist, je geringer die Virulenz und umgekehrt. Gärvermögen für Zucker und Giftigkeit scheint dagegen nach G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h parallel zu gehen. Das beste Impfmaterial zur Gewinnung von giftigen Kulturen wird dadurch erhalten, daß man die auf Zuckeragarplatten vom Tier gewonnenen Kolonien auf Rindermuskeln, die mit Kreidezuckerbouillon vermischt sind, überträgt und dort sporulieren läßt. Die im Kreideschlamm scharf getrockneten Sporen sind jahrelang unverändert wirksam.

Da gerade den virulenten Bakterien die Giftigkeit mangelt, liegt es nahe, anzunehmen, daß das Gift bei den Krankheitserscheinungen im infizierten Tier keine Rolle

1) „Über das Rauschbrandgift und ein antitoxisches Serum“ und „Über die Beziehungen von Toxin und Antitoxin“ Leipzig-Wien 1904. Handb. v. K r a u s und L e v a d i t i, 1 und 2, 1907/08.

spielt (vgl. S. 859). In der Tat vermochten G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h weder durch aktive noch durch passive Immunisierung gegen das Gift Tiere vor der Infektion zu schützen. Trotz der Ähnlichkeit der Vergiftungserscheinungen bei infizierten Tieren muß hier also wohl ein anderes Gift wirksam sein, wenn nicht, wie G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h vermuten (Anm. 1. S. 859), die Krankheitserscheinungen im infizierten Tier dadurch ausgelöst werden, daß von den Erregern ein lebenswichtiger Stoff aus dem Körper entfernt wird.

Auch bei den Bazillen des m a l i g n e n Ö d e m s sind nur geringe toxische Wirkungen festgestellt worden: die Kulturfiltrate töten nur in gewaltigen Mengen, z. B. nach S a n f e l i c e (s. o.) Meerschweinchen, wenn man ihnen 25—30 ccm unter die Haut spritzt. Die Giftigkeit der Filtrate soll nach R o u x und C h a m b e r l a n d durch Kochen nicht geschädigt werden. Es fragt sich aber, ob man hier nicht ähnliche Erfahrungen wie beim Rauschbrand machen wird. Die Tatsache, daß B e s s o n ¹⁾ aus Kulturen in 10 prozentiger Peptonlösung oder Fleischbrei ein Filtrat gewann, das zwar nur eine geringe allgemeine Giftigkeit, aber starke ödem-erregende „negativ chemotaktische“ Eigenschaften besaß und diese durch Erhitzen auf 80—100° einbüßte, spricht dafür, daß neben den gewöhnlichen entzündungserregenden, positiv chemotaktischen und hitzebeständigen Leibesgiften, die allen Bakterien eigen sind (§ 280), hier besondere Entzündungsgifte (§ 332) gebildet werden.

Fast nichts wissen wir von den Giften der ebenfalls anaëroben Bazillen des B r a d s o t s ²⁾ und der R e n n t i e r p e s t ³⁾. Dagegen hat P a s s i n i ⁴⁾ bei den G a s p h l e g m o n e bazillen (*B. emphysematicus*) Gifte nachweisen können, und zwar sollen es zwei sein: Das eine kräftigere wird dadurch gewonnen, daß man die Bazillen züchtet in einer Mischung, die durch Trypsinverdauung aus frischem Rindermuskel und Zusatz von 1 bis 2% Traubenzucker hergestellt ist. Nach 2—4wöchentlichem Wachstum tötet das Filtrat der Kulturen Kaninchen von 1 kg vom Blut aus b i n n e n e i n e r M i n u t e u n t e r K r ä m p f e n u n d a l l g e m e i n e r L ä h m u n g. Kleine Gaben überwindet das Tier. Meerschweinchen sterben an größeren Gaben binnen ½—1 Stunde mit Störungen der Atmung. Bemerkenswerterweise erzeugten andere Anaëroben wie *B. putrificus*, *oedematis maligni* oder *botulinus* in dieser Nährlösung kein ähnliches Gift. Ein zweiter Giftstoff, der in Zuckerbouillonkulturen gebildet wird, bewirkt am Orte der Einspritzung bei Meerschweinchen in Gaben von 3 ccm ein l e u k o - z y t e n a r m e s, s e r ö s - h ä m o r r h a g i s c h e s E x s u d a t u n d d a n a c h N e k r o s e d e r H a u t, Erscheinungen, wie sie B e s s o n (s. o.) mit Filtraten des Ödembazillus erhalten hatte. Große Mengen töten Meerschweinchen von der Bauchhöhle aus, Hunde vom Blut

1) Annal. Pasteur 1895.

2) J e n s e n, Handb. pathog. Mikroorganismen (K o l l e - W a s - s e r m a n n).

3) L u n d g r e n, Zeitschr. f. Tiermediz. 1898; B e r g m a n n, ebenda 1901.

4) Wien. klin. Woch. 1905. 36.

aus. Bei dem letzteren Tiere finden sich Veränderungen im Darm, die durchaus an die Sepsisvergiftung erinnern. Sie sind wohl, wie wir schon gesehen haben, nicht spezifisch (S. 814).

Neuerdings macht K o r e n t s c h e w s k y ¹⁾ einige Angaben über ein Filtratgift bei dem Bac. perfringens, einem den normalen Darm bewohnenden Anaërobier, der dem Emphysembazillus nahesteht, und beim Bac. putrificus coli. Sie sollen junge Tiere vom Rektum aus teils vergiften, teils immunisieren.

Über hämolytische und leukozide Gifte der Anaërobier vgl. § 312 u. 317.

§ 284. **Choleragift.** Die Arbeiten über die Giftbildung des Cholera vibrio sind sehr zahlreich²⁾. Trotzdem ist noch keine Übereinstimmung der Meinungen herbeigeführt worden. Die einen suchen die Gifte in Sekretionen der Cholerabakterien, die anderen, die übrigens jetzt wohl in der großen Mehrzahl sind, in ihren Leibern; bald soll das Choleragift der Kochhitze widerstehen, bald sehr empfindlich gegen Erhitzung sein, bald mit, bald ohne Inkubation töten, bald spezifisch, bald nicht spezifisch sein, bald antitoxisches Serum erzeugen, bald nicht.

Daß man mit Kulturen des Cholera vibrio Giftwirkungen auslösen kann, ist eine Erfahrung, die man bald nach seiner Entdeckung gemacht hat, man konnte auch das Gift von den Bakterienleibern durch Filtration trennen, doch erhielt man im allgemeinen dadurch nur dann kräftige Wirkungen, wenn man alte Kulturen und große Mengen verwendete. So starben in S o b e r n h e i m s ³⁾ Versuchen Meerschweinchen nicht, wenn man ihnen 20 ccm Filtrat einer zehntägigen Bouillon ins Bauchfell spritzte, wohl nach Einverleibung von 5 ccm einer 30—45 tägigen Kultur. Einstündige Erhitzung des Filtrats auf 80° C änderte nichts an seiner Giftigkeit. Um sie zu erklären, könnte man, wenn man nicht mit E m m e r i c h die Cholera für eine Nitritvergiftung hält (S. 804), an basische Körper, Ptomaine denken, doch ist bisher nur das wenig giftige und für die Cholera durchaus nicht charakteristische Kadaverin neben Spuren anderer Pto-
maine (S. 820) aus Cholerakulturen dargestellt worden. Auch sprechen zahlreiche Untersuchungen, die sich mit der Natur des Choleragiftes beschäftigt haben, dafür, daß es sich da um verwickelter gebaute Stoffe handeln muß, die mit den Eiweißstoffen geringe Diffusionsfähigkeit und die Eigenschaft gemein haben, durch deren Fällungsmittel nachgewiesen zu werden. Manche Forscher halten sie für eine Art E i w e i ß k ö r p e r. So erhielt zuerst P e t r i ⁴⁾ aus alten Kulturen des Choleraspirillum auf 10prozentigem Pepton durch Ausfällung mit Alkohol ein „Toxopecton“, Es ist hitzebeständig, wie das Gift der Bouillonfiltrate, kann aber als Choleragift deswegen kaum betrachtet werden, weil es erst in einer Menge von 0,1 bis 0,4 g Meerschweinchen zu töten vermag. Den Globulinen nahe stehen

1) Annal. Pasteur 1909.

2) Ältere Literatur bei S c h o l l, Arch. f. Hyg. 15, 1892.

3) Zeitschr. f. Hyg. 14, 1893.

4) Arbeit. Gesundheitsamts 6, 1890.

soll das „Toxalbumin“, das **B r i e g e r** und **C. F r ä n k e l** ¹⁾ aus Cholerafiltraten durch Fällung mit Alkohol darstellten. Es ist für Meerschweinchen, nicht für Kaninchen giftig und geht nur schwer in Lösung. Doch fehlen genauere Angaben über seine Wirksamkeit und seine Eigenschaften. Aus Filtraten älterer Kulturen, die er mit Alkohol und Ammonsulfat fällte, gewann auch **W e s b r o o k** ²⁾ giftige Substanzen der Cholera-spirillen, ob er sie nun auf Alkalialbuminat, Eiern, echtem Pepton, Asparagin oder auf gewöhnlicher Bouillon züchtete. Leider gibt der Verfasser nichts an über die Giftausbeute, die er erzielte, und über das Verhalten des Giftes gegen Erhitzung, doch hat er wahrscheinlich wenig wirksame, hitzebeständige Stoffe in Händen gehabt. Da die Giftwirkung im wesentlichen stets die gleiche, die chemischen Reaktionen aber bald die des Alkalialbuminats, bald die der Albumosen oder Peptone waren, kam **W e s b r o o k** zu der Ansicht, daß das Choleragift ein einheitlicher, aber unbekannter Körper sei, der den genannten Eiweißstoffen nur beigemischt sei.

Von den bisher besprochenen Erfahrungen, die für eine verhältnismäßig geringe Wirksamkeit der Cholerafiltrate sprechen, weichen die folgenden ab, was wohl dafür spricht, daß sie nicht als allgemeingültig betrachtet werden dürfen, sondern nur für bestimmte Cholera-stämme gelten.

Mit ziemlich jungen Filtraten, etwa 5—10tägigen Kulturen, arbeitete **R a n s o m** ³⁾. Der Filtration schickte er eine kurze Erhitzung auf 100° voraus, was darauf deutet, daß durch die Wärme aus den Bakterienleibern erst die giftigen Stoffe ausgelaugt werden müssen, ehe man sie in Lösung bekommt. 0,07 g des durch Niederschlagen mit Alkohol gewonnenen Giftes waren für Meerschweinchen tödlich. Noch eher einem echten Sekret ähnlich ist das Gift, das **M e t s c h n i k o f f**, **R o u x** und **S a l i m b e n i - T a u r e l l i** ⁴⁾ mit Hilfe von Cholerabazillen gewannen, die sie durch ein besonderes Verfahren virulent gemacht hatten. Sie brachten zu dem Behufe 3 ccm einer Peptonlösung, die mit Kommabazillen geimpft war, in sterile Kollodiumsäckchen eingeschlossen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen. Diese starben nach 3—5 Tagen unter den Erscheinungen des Cholerakollapses, die Bakterien zeigten damit also ihre Fähigkeit, durch die Kollodiumwand hindurch ein tödliches Gift abzusondern, behielten auch ihre Giftigkeit, wenn sie weiter in Peptonkochsalzlösung (besonders mit Zusatz von Serum) und bei reichlichem Luftzutritt (in Petrischalen) gezüchtet wurden: 0,25 ccm des Filtrats von viertägigen Kulturen töteten schon Meerschweinchen, große Mengen sogar in wenigen Minuten. Auch dieses Gift vertrug das Kochen, ließ sich durch Ammoniumsulfat oder Alkohol fällen, konnte luftdicht verschlossen Monate lang aufbewahrt werden, verlor aber seine Wirksamkeit in Berührung mit dem Luftsauerstoff. Es hat also ganz den Anschein, daß es unter Umständen gelingt, auch die Choleraspirillen wie die Diphtherie- oder Rauschbrandbazillen zur „Sekretion“ eines Giftes zu veranlassen, das sich allerdings durch

1) Berl. klin. Woch. 1890. 12.

2) Annal. Pasteur 1894.

3) Deutsch. med. Woch. 1895. 29; vgl. auch **B e h r i n g** ebenda 1898. 294.

4) Annal. Pasteur 1896.

ne geringe Wirksamkeit und seine Hitzebeständigkeit sowie durch die mlich geringe Fähigkeit, Antitoxin zu erzeugen, von jenen unterscheidet.

H ü p p e ¹⁾ und sein Schüler S c h o l l ²⁾ gingen bei ihren Untersuchungen über das Choleragift von der Voraussetzung aus, daß die Cholera-
kterien nur unter ganz bestimmten Bedingungen ihr Gift absondern
nnten, wenn sie nämlich wie im Darm der Cholerakranken ohne Sauer-
ff fortkommen und von echten Eiweißstoffen sich nähren müßten. Um
natürlichen Verhältnisse möglichst nachzuahmen, wurden daher die
brionen in frische H ü h n e r e i e r geimpft, deren Schale vorher mit
blimat desinfiziert worden war. Nach wochenlangem Wachstum bei
° erwies sich das Eiweiß als stark giftig. In S c h o l l s Versuchen genügte
aus dem Eiweiß eines einzigen Eis durch Alkohol gefällte und dann
eder in Wasser gelöste Substanz, um 10 Meerschweinchen b i n n e n
M i n u t e n zu töten. Wegen seiner Reaktion bezeichnet S c h o l l
s Gift als C h o l e r a t o x o p e p t o n, muß aber selbst zugeben, daß
zum Unterschied von den bekannten Peptonen sehr unbeständig ist,
B. durch die Kochhitze augenblicklich, durch Erhitzung auf 75° binnen
Minuten und selbst durch Eintrocknen der wässerigen Lösung bei 40—45°
luftleeren Raum zerstört wird. Neben diesem Gift stellte S c h o l l
uch aus denselben Eikulturen, sowie aus Kulturen des Cholerabazillus,
e unter Luftabschluß auf 10prozentiger Peptonlösung oder unter Luft-
tritt auf demselben Nährboden gewachsen waren, ein „Toxoglobulin“
nd ein hitzebeständiges giftiges Pepton dar, das er mit dem P e t r i s c h e n
. o.) identifiziert. Doch haben diese beiden nur geringe Bedeutung. Pto-
aine ließen sich überhaupt nicht gewinnen.

Gegen die Untersuchungen von H ü p p e und S c h o l l wurden
anherlei Einwände erhoben. So gibt nach der übereinstimmenden Fest-
ellung einer Reihe von Forschern³⁾ die Züchtung auch in ganz frischen
ühnereiern keine Gewähr dafür, daß die Kulturen rein bleiben. Es be-
ände daher die Möglichkeit, daß wenigstens ein Teil der obigen mit
ikulturen gewonnenen Ergebnisse durch Verunreinigungen erklärt werden
önnte. Schwerer wiegt der Nachweis, den G r u b e r und W i e n e r ⁴⁾
bracht haben, daß man auch aus ungeimpften Eiern nach Alkoholfällung
stoffe ausziehen kann, die ähnliche stürmische Erscheinungen (Krämpfe
nd Lähmungen) hervorrufen, wie die Extrakte der mit Cholera geimpften
ier. Der spätere Verlauf der Vergiftung ist allerdings bei den Cholera-
eren ein etwas anderer. Immerhin haben dadurch die Versuche von
H ü p p e und S c h o l l sehr an Beweiskraft verloren. Es kommt hierzu,
aß auch die Voraussetzung, von der H ü p p e ausgegangen ist, kaum
egründet ist: das Wachstum in den Eiern ist durchaus kein anaërobes,
ie Eischale ist für die Luft durchgängig, bei wirklich vollständiger Anaëro-
iose sind die Choleraspirillen auf keinem Nährboden zum Wachstum zu
bringen.

In den letzten Jahren ist die Frage der löslichen Toxine bei der Cholera
on neuem aufgetaucht. Zuerst fanden R. K r a u s und P r i b r a m ⁵⁾

1) Zentr. Bakt. 4. 3, 1888.

2) Berl. klin. Woch. 90. 41 und Arch. f. Hyg. 15, 1892.

3) Z e n t h ö f e r, Zeitschr. f. Hyg. 16; H a m m e r l, ebenda 18;
A b e l und D r ä e r ebenda 19; D ö n i t z ebenda 20, 1894—1895.

4) Arch. f. Hyg. 15, 1892.

5) Zentr. Bakt. 41; Wien. klin. Woch. 1905. 39.

bei den sog. El-Tor-Vibrionen, die G o t s c h l i c h aus dem Darm von Dysenterieleichen isoliert hatte, später R. K r a u s und R u ß ¹⁾ auch bei Choleravibrionen sicheren Ursprungs in alkalischer Peptonbouillon schon vom 3. Tage an neben H ä m o l y s i n (§ 312) ein Gift, das sich — am besten durch Papier — filtrieren ließ, bei 70° s c h o n s t a r k a b g e s c h w ä c h t, auch durch H₂O₂, Säuren (D ö r r S. 857), sowie Trypsinverdauung zerstört wurde, aber s o n s t s e h r h a l t b a r war. Die tödliche Wirkung des Giftes trat nach intravenöser Einspritzung (0,5 ccm) bei Kaninchen in 10—30 Minuten, also o h n e W a r t e z e i t (I n k u b a t i o n) ²⁾ ein, ganz ähnlich wie bei dem früher von K r a u s gefundenen Toxin des Vibrio Nasik (s. u. § 285), nach intraperitonealer Einverleibung allerdings erst in 8—16 Stunden, nach subkutaner noch später. Meerschweinchen, Tauben, Hühner, Mäuse waren gleich empfänglich, etwas weniger Katzen. Mit dem Gift ließ sich ein freilich schwaches Antitoxin erzeugen, das auch die Gifte des Saigonbazillus (s. u.) und anderer Vibrionen (Nasik s. o.), aber nicht die fernerstehender Bakterien beeinflusste. Bemerkenswert, weil es hier zum erstenmal ausdrücklich ausgesprochen wurde, ist, daß bei weitem nicht alle echten Cholera-stämme dieses Gift bilden³⁾. Ob es daher für die menschliche Cholera in Betracht kommt, muß sehr dahingestellt bleiben. Ebenso scheint das von B r a u und D e n i e r ⁴⁾ und nachher von K r a u s und R u ß gewonnene, aus einer Epidemie von Saigon stammende Choleragift nicht allgemein verbreitet zu sein. Durch seine Hitzebeständigkeit und sonstige leichte Zersetzlichkeit ähnelt es den Giften von R a n s o m, M e t s c h n i k o f f usw. (s. o.). Meerschweinchen sterben nach subkutanen und intraperitonealen, Kaninchen nach intravenösen Einspritzungen von etwa 1 ccm des auf Pferdeserum-Blutnährböden gewonnenen Giftes im Laufe von 5—24 Stunden unter den Erscheinungen des Cholerakollapses. Auch dieses Gift bildet schwaches Antitoxin.

Während die bisher genannten Forscher die von ihnen gefundenen Gifte als Absonderungen des Cholerabazillus betrachten, hatte schon C a n t a n i ⁵⁾ die Ansicht ausgesprochen, daß die t o t e n C h o l e r a - b a z i l l e n den Körper so vergiften, wie es die genossenen giftigen Schwämme tun. Aber nur für den Typhus führte zunächst S i r o t i n i etwa gleichzeitig mit C a n t a n i schon beweiskräftige Versuche aus (§ 286). Daß es sich bei der Cholera ebenso verhielte, dafür brachten später unabhängig voneinander G a m a l e i a und R. P f e i f f e r, und zwar auf verschiedenen Wegen, Beweise bei; der erstere ging von alten Kulturen in flüssigen Nährböden, der letztere von jungen Kulturen auf festen Nährböden aus.

1) Zentr. Bakt. 45, 1907.

2) Nach R o t h b e r g e r ist es ein Herzgift.

3) Nach R u a t a, Zentr. Bakt. 44, 387 soll das Gift nur in einer ganz bestimmten kurzen Periode ausgeschieden werden. S. u. Bürgers.

4) Annal. Pasteur 1906.

5) Deutsch. med. Woch. 1886. 45.

Nach G a m a l e i a ¹⁾ ist die Existenz des echten Choleragiftes am besten darzutun durch Versuche am Kaninchen. Wenn man 15—20 ccm einer 14tägigen Kultur des Choleraspirillum in Kalbsfußbouillon einem Kaninchen in das Blut spritzt, erliegt es binnen 15 Stunden unter Krankheitserscheinungen, die durch die Beeinflussung des Dünndarms an Cholera erinnern. Werden dieselben Kulturen filtriert, so sind sie viel weniger wirksam und verursachen bloß eine schnell vorübergehende Diarrhée. Offenbar werden die giftigen Stoffe der Hauptsache nach zurückgehalten. Dagegen werden sie nicht verändert durch eine Erhitzung bei 55—60°. Geschieht man drei aufeinander folgenden Tagen je eine Stunde lang, so sind die Kulturen (5—15 ccm) sogar jetzt giftiger als die nicht sterilisierten und die Krankheitserscheinungen (Diarrhée, Schwäche, Muskelkrampf, Durst) noch mehr der Cholera ähnlich. Es liegt nahe, das daraus zu erklären, daß das Gift durch die Hitze allmählich den Bakterienleibern entzogen wird. In demselben Sinne spricht die Tatsache, daß die Giftigkeit noch zunimmt, wenn man die Kultur nach der Erhitzung einige Wochen stehen läßt. In der klaren Flüssigkeit, die über den Bakterienleibern steht, sammelt sich das Gift immer mehr an; durch Filtration büßt es aber wieder einen Teil seiner Wirksamkeit ein, weil auch das gelöste Gift im Filter stehen bleibt. Daß die Bakterienleiber die Giftquelle darstellen, kann man unmittelbar beweisen, indem man sie aus den Kulturen durch sauren Alkohol oder verdünnte Schwefelsäure oder Bleizuckerung niederschlägt und mit kohlensaurem oder doppeltkohlensaurem Natrium auszieht: der Extrakt ruft Diarrhée hervor. Durch Erhitzung über 60° hinaus verliert das Gift seine spezifische Wirkung, behält aber doch noch eine gewisse Giftigkeit bei: das „Nukleoalbumin“ wandelt sich, wie G a m a l e i a sich ausdrückt, in das „Nuklein“ um. Seine Eigenschaften sind folgende: Durch sauren Alkohol wird es niedergeschlagen, der Niederschlag löst sich in Wasser, das mit doppeltkohlensaurem Natrium alkalisch gemacht ist, wird aber beim Kochen mit fixen Alkalien zerstört, ebenso durch Kochen mit kohlensaurem Blei oder Zink. Die Lösungen werden nicht gefällt durch Übersättigung mit Kochsalz. Seinen Charakter „Nuklein“ verrät nach G a m a l e i a dieses hitzebeständige Gift auch dadurch, daß es aus den Bakterienleibern ausgezogen werden muß, die wesentlich aus Kernsubstanz bestehen (vgl. S. 66 ff.). Werden die Kulturen von vornherein bei 60—100° erhitzt, so sind sie weniger giftig, wenn man sie bei 120° sterilisiert, unmittelbar nach der Erhitzung weniger, als wenn sie einige Zeit danach stehen. Besonders Meerschweinchen sind für das Nuklein empfänglich, sie sterben schon nach subkutaner Einritzung verhältnismäßig kleiner Mengen unter beständiger Temperaturniedrigung mit einer hämorrhagischen Entzündung am Orte der Einritzung. Niedrige Dosen rufen umgekehrt Fieber hervor. Tuberkulöse Meerschweinchen reagieren wie auf Tuberkulin. Um Kaninchen zu töten, bedarf es, wenn man Kulturen unmittelbar nach der Erhitzung bei 120° benutzt, sehr große Gaben nötig, länger ausgezogene Kulturen töten aber schon in ähnlichen Mengen (5—10 ccm) wie die nur unter 60° sterilisierten, das Gift noch als Nukleoalbumin enthalten. Die Erscheinungen dabei sollen aber nicht charakteristisch sein²⁾.

1) Arch. médec. expér. 1892.

2) Eine ähnliche Giftlösung bereitete S a n a r e l l i (Annal. Pasteur 95. 133) aus Komma Bazillen, indem er sie in 2 Litern 2 prozentiger Pepton-

Den geraden Weg schlug R. Pfeiffer¹⁾ ein, um die Frage nach der Giftigkeit der Cholerabazillen zu beantworten. Er prüfte Aufschwemmungen der Bazillen, die frisch auf der Agaroberfläche gewachsen waren, durch Einspritzung in die Bauchhöhle von Meerschweinchen und fand, daß im Durchschnitt 10 mg (d. h. etwa ein Drittel des Bakterienrasens) einer 20stündigen, durch 10 Minuten lange Einwirkung von Chloroform abgetöteten Cholerakultur auf schrägem Agar genügten, um Tiere von 200 g Gewicht unter starker Temperaturerniedrigung, Muskelschwäche — Erscheinungen, die dem Stadium algidum der Cholera entsprechen — und schließlich klonischen Krämpfen binnen etwa 12 Stunden zu töten. Lebende Cholerabakterien töteten etwa in einer zehnfach geringeren Menge, aber mit denselben Krankheitserscheinungen, und die Untersuchung ergab dabei, daß, in vielen Fällen wenigstens, die Bakterien beim Tode des Tiers nur in geringer Zahl vorhanden, also ebenfalls zugrunde gegangen waren. Der Schluß lag nahe, daß die Cholerabazillen durch ihr Zugrundegehen im Tier die Vergiftung erzeugt hatten. Die intravenöse Verabreichung tötete in etwas kleineren, die subkutane erst in größeren Gaben, aber unter denselben Erscheinungen. Vom normalen Darmkanal aus ist das Gift unwirksam, wirkt aber wieder, wenn die Tiere durch Opiumtinktur geschädigt sind²⁾. Kaninchen³⁾ sind für das Choleragift weniger empfänglich, sie brauchen bei intravenöser Einspritzung je nach ihrer Größe und individuellen Anlage 10—120 mg abgetöteten Bakterienrasens und sterben unter DiarrhÖe gewöhnlich erst nach einer Reihe von Tagen. — Der wirksame Giftstoff soll gegen schädigende Einflüsse äußerst empfindlich sein. Am wenigsten werde

gelatine zu gleichen Teilen einen Monat lang bei 37° züchtete, die Kultur nach starker Alkalisierung bei 60° zum Sirup eindampfte, mit 10 ccm Glyzerin 2 Wochen bei 37° auszog, mit destilliertem Wasser auf ½ Liter auffüllte, mit Milchsäure neutralisierte und bei 120° sterilisierte; 3 ccm des Giftes töteten selbst vom Magen aus (nach Alkalisierung), 0,5—1 ccm vom Peritoneum aus Meerschweinchen in einigen Stunden unter den Erscheinungen der Cholera. Übrigens waren die Kommabazillen anscheinend keine echten Cholerabazillen, sondern teils *Vibrio Ghinda*, dessen Gift am kräftigsten, teils *Vibrio Paris* und *Metschnikoffii*, die am schwächsten wirkten.

1) Zeitschr. f. Hyg. 11, 1892 und „Mikroorganismen“ von Flüge. 3. Aufl. 2. 551, 1896; vgl. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. 14, Pfeiffer und Wassermann ebenda.

2) Vgl. weiter unten. Näheres über die Vergiftungen vom Darm aus in der Infektionslehre.

3) Issaef und Kollé, Zeitschr. f. Hyg. 18. 39, 1894. Mäuse scheinen gegen Choleragift besonders widerstandsfähig zu sein, wenn man die erfolglosen Versuche Kochs und seiner Mitarbeiter in Indien (vgl. Gaffky, Arb. Gesundheitsamt 3. 174) betrachtet.

geschädigt durch die Behandlung mit Chloroform oder Thymol
r durch Eintrocknen, stärker durch Erhitzen bei 60° und besonders
höheren Temperaturen, ferner durch Alkohol und schwefelsaures
mon. Glycerin sei kein Mittel, das zum Ausziehen der Gifte ge-
net sei. Infolgedessen ist es P f e i f f e r nicht gelungen, das Cholera-
in Lösung darzustellen.

Durch die verschiedensten schädigenden Eingriffe entsteht nach
e i f f e r aus dem beschriebenen „primären“ Gift ein „sekun-
es“, das gegen Kochen, Verdauung usw. beständig ist, aber erst
iner 10—20 mal größeren Gabe der Leiber mit ähnlichen, wenn auch
as weniger akuten Erscheinungen tötet.

Die späteren Erfahrungen haben diese Schilderung P f e i f f e r s
großen und ganzen bestätigt, nur besteht im allgemeinen kein
heblicher Unterschied¹⁾ zwischen den primären
d sekundären Leibesgiften der Cholera vibri-
en, sondern es ist nur sicher, daß wie bei anderen Bakterien, z. B.
phus-, Ruhr-, Colibazillen, die länger dauernde und höher getriebene
nitzung die Leibesgifte etwas abschwächt. Vielleicht erklärt sich
r die ursprüngliche Schilderung P f e i f f e r s daraus, daß er bei
en ersten Untersuchungen sich hauptsächlich nicht eines Cholera-
mmes, sondern des sog. Vibrio Massaua bedient hat. Nach Ver-
hen, die in meinem Laboratorium im Laufe der Jahre, zuletzt von
r g e r s ²⁾ angestellt worden sind, beträgt bei intraperitonealer
verleibung die tödliche Gabe vorsichtig abgetöteter Cholerabazillen,
frisch isoliert waren, meist $\frac{1}{2}$ —1 Agarkultur, ausnahmsweise
iger oder auch mehr³⁾. Bei stärker erhitzten Bazillen sind meist
as höhere Gaben nötig, doch macht die recht ungleiche Giftemp-
lichkeit der Meerschweinchen genauere Angaben ziemlich schwierig,
nche Versuchsreihen fallen geradezu umgekehrt aus, als man er-
ten sollte. Mit der Giftigkeit der künstlich a b g e t ö t e t e n
zillenleiber stimmte diejenige der l e b e n d in die Bauchhöhle ein-
führten Bazillen in unseren Versuchen nahe überein. Sie betrug näm-

1) S l u y t s (Cellule 10, 1894), der freilich wesentlich mit Kaninchen
l Hunden arbeitete, fand gar keinen Unterschied zwischen primären und
undären Giften. K l e m p e r e r (Zeitschr. f. klin. Med. 25, 1894) schrieb
hitzeempfindlichen und -beständigen Giften verschiedene Wirkungen
und beobachtete bei Hunden einen hämorrhagischen Darmkatarrh. Es
das eine auch sonst bekannte Bakterienproteinwirkung (s. o. S. 914).

2) Mitgeteilt auf der 82. Versammlg. D. Naturf. u. Ärzte in Königs-
g 1910, 28. Abteil.

3) Vgl. die Angaben von G r u b e r und W i e n e r, Arch. f. Hyg.
und G r u b e r, Münch. med. Woch. 1896. 9.

lich bei unseren frisch vom Kranken gezüchteten Vibrionen — unter Schwankungen von $\frac{2}{10}$ — $\frac{1}{1}$ — durchschnittlich etwa $\frac{1}{2}$ Agarkultur.

Andere Forscher erhielten freilich weit kleinere Zahlen, weil die von ihnen geprüften Vibrionen größere Infektionskraft besaßen. Als wir durch den Tierversuch die Virulenz unserer Kulturen erheblich gesteigert hatten, behielten nebenbei bemerkt die abgetöteten Bazillen ihre alte Giftigkeit (s. u.).

Es gelang uns, wenn auch nicht ganz so leicht wie beim Typhus-Ruhrbazillus usw., das Leibesgift in Lösung zu bringen; so wurde mindestens die Hälfte des Giftes bei 1—2stündiger Erhitzung auf 55—65° durch Kochsalzlösung ausgezogen (1 ccm auf 1—2 Kulturen¹⁾), während andere Verfahren wie Selbstverdauung mit Chloroform, tagelanges Schütteln mit Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser uns weit schlechtere Ergebnisse lieferten.

K o l l e und seine Mitarbeiter C a r r i è r e und T o m a r k i n²⁾ empfehlen dagegen gerade die Schüttelmethode, sie erhielten damit im destillierten Wasser Gifte, die in 1,2—1,5 ccm — entsprechend dem Extrakt aus 2½—3 Agarkulturen — Meerschweinchen von 300 g töteten. Es waren also doch gegen die unserigen nur ziemlich schwache Giftlösungen. Auffällig ist die Bemerkung, daß Erhitzen auf 60° die Giftigkeit aufhob, es hat sich aber wohl nur um eine Abschwächung gehandelt.

Andere ältere Verfahren, die darauf ausgingen, die Bakterienleiber aufzulösen, hatten kein besseres Ergebnis. Die Preßsaftmethode, die zur Darstellung der Zymase angewandt wird, ergab H a h n³⁾ zwar ein örtlich stärker reizendes, aber nur wenig giftiges „Plasmin“ ebenso⁴⁾ die tage- oder wochenlang fortgesetzte Selbstverdauung in Kochsalzlösung oder einem aus der Darmwand hergestellten Preßsaft. Der Verfasser betont, daß B l u t u n g e n auch auf der Magendarmschleimhaut vorkamen, daß die subkutane Darreichung ebenfalls erfolgreich war und Erhitzen auf 55—60° keine Abschwächung verursachte. Wesentlich stärker wirkten auch nicht die von M a c f a d y e n⁵⁾ durch Verreiben der Bazillen bei der Temperatur der flüssigen Luft und Auflösung in der zehnfachen Menge 0,1prozentiger Kalilauge erhaltenen Lösungen, wenn man bedenkt, daß 0,1 ccm derselben töd-

1) Wie bei allen anderen Endotoxinen darf man nicht zuviel Flüssigkeit nehmen, wenn man die volle Giftigkeit erhalten will.

2) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 4. 40, 1909.

3) Münch. med. Woch. 1897, 48.

4) Ebenda 1906. 23.

5) Zentr. Bakt. 42. 365, 1905.

ch waren. Die Giftigkeit stieg mit der Virulenz der lebenden Kulturen, während Hahn und wir das nicht beobachteten. Carrière und Tomarkin (s. o.) sahen bei ähnlich hergestellten Giften den Tod erst bei Gaben von 0,15—0,25 ccm eintreten. Wurden die zerriebenen Bazillen statt mit Kalilauge mit Kochsalzlösung aufgelöst, so wurde an den Ergebnissen kaum etwas geändert. Auffällig ist auch hier wieder ihre Angabe, daß einstündige Erhitzung auf 55° die Giftigkeit aufhebt. Macfadyen hatte dasselbe gefunden und durch anscheinend einwandfreie Versuchsreihen belegt. Vielleicht ist die starke Konzentration bzw. der Eiweißreichtum des Saftes daran schuld, wenn der Unterschied in der Widerstandsfähigkeit nicht etwa darin liegen sollte, daß die übrigen Verfahren die Verbindung des Giftes mit dem Eiweiß der Zelle lösen.

Nach Schurupow¹⁾ kann man auch die nach dem Verfahren von Lustig und Galeotti (s. Pest § 291) durch Ausziehen der Leiber mit 0,5—1 prozentiger Kalilauge und Fällung mit Essigsäure, Waschen und Trocknen dargestellten „Nukleoproteide“ als Endotoxine betrachten. Ob das Verfahren Vorzüge bietet, steht dahin, es sollen sich damit aber, wie übrigens auch mit den folgenden und vorhergehenden Präparaten, antitoxische Sera herstellen lassen. Krawkow²⁾ benutzt ein mittelst Kupferazetat und Kalilauge aus toten Bazillen gewonnenes Nukleoproteid (vgl. Iwanoff S. 67). Die tödliche Gabe beträgt 0,01—0,02 g, ist also, da es sich um ein Trockenpräparat handelt, recht hoch. Die Vergiftungserscheinungen an großen Tieren sollen — mehr als sonst? — denen der Cholera ähneln.

Die mit Cholera-Endotoxinen und Ektotoxinen (s. o. S. 926 u. 928) hergestellten Antitoxine ähneln sich darin, daß sie recht schwach sind, kräftigere hat anscheinend nur Macfadyen erhalten.

Überschaut man die vorliegenden Untersuchungen über die Cholergifte³⁾, so macht es den Eindruck, als ob die Endotoxine, schon weil sie regelmäßig aus den Bazillen zu erhalten sind, bei weitem die größte Bedeutung besitzen. Ob die einzelnen, auf so verschiedene Weise gewonnenen Leibesgifte aber untereinander völlig gleich sind, müssen wir noch offen lassen. Ebenso ist hier wie bei den übrigen Endotoxinen nicht ganz sicher, ob Pfeiffer recht hat, wenn er annimmt, daß die Bakterien bei der Infektion im Tier oder Menschen nur dadurch giftig wirken, daß sie im Körper zugrunde gehen und sich auflösen. Man sieht nämlich nach unseren Erfahrungen im erfolgreich infizierten

1) (Russisch.) Ref. Zeitschr. f. Immun. 1. 610 und Zentr. Bakt. 49, 1909.

2) (Russisch.) Ref. Zeitschr. f. Immun. 1. 609, 1909.

3) Vgl. auch das über die Nitritlehre Emmerichs Gesagte S. 804.

Tier nicht soviel Bakterien zugrunde gehen, als man erwarten müßte, wenn das dabei freiwerdende Endotoxin den Tod verursachen sollte. Eine Lösung des Rätsels in dem von Pfeiffer verteidigten Sinne würde man allerdings haben, wenn man annehmen dürfte, daß die Keime beim Zugrundegehen im lebenden Körper ein viel kräftigeres Gift abgeben, als bei unseren künstlichen, auch den schonendsten Gewinnungsverfahren. Aber vorläufig scheint mir eine andere Möglichkeit daneben beachtenswert: auch diejenigen Bazillen, die längere oder kürzere Zeit überleben, könnten zur Endotoxinbildung beitragen, indem sie unter dem Einfluß der Widerstandskräfte des Körpers giftige Bestandteile abgeben (vgl. das Anaphylatoxin § 344).

Der Nachweis von Giften in den Säften des mit Cholera infizierten Körpers ist, abgesehen von Emmerich (S. 804), mehrfach versucht worden. So hat Bosc¹⁾ gefunden, daß 3,6—5,5 ccm Blutserum von cholerakranken Menschen Kaninchen (auf 1 kg berechnet) unter Erscheinungen töteten, die sonst mit Cholerakulturen hervorgerufen werden können, während erst 15 ccm normalen Blutserums die tödliche Gabe darstellten. Es fragt sich, ob man daraus Schlüsse ziehen darf. Daß auch die tierischen, aus Exsudaten gewonnenen Aggressive Bails giftig sind, hat namentlich Sauerbeck betont (§ 321). Auch in den Darmentleerungen kann man natürlich das Gift voraussetzen. Je nach der Zusammensetzung wird es aber darin in sehr wechselnden und oft sehr geringen Mengen vorhanden sein. Tatsächlich sind die Versuche damit (vgl. Hahn) bisher ohne klares Ergebnis geblieben.

Da die menschliche Cholera eine derjenigen Infektionen ist, bei denen die Erreger nur ganz oberflächlich in die Gewebe eindringen, so fragt es sich, wie sie denn eigentlich ihre Giftigkeit zur Geltung bringen. Man könnte zunächst annehmen, daß entweder aus den in gewaltigen Massen im Darminhalt entwickelten Vibrionen große Giftmengen ausgeschieden und durch das unveränderte Epithel aufgesogen würden, oder daß diese Aufsaugung erst durch eine zerstörende Wirkung der Cholergifte auf die Epithelien ermöglicht würde. Die Versuche (vgl. namentlich bei Bürgers) lehren nun aber, daß von den für die Darminfektion in gewisser Weise empfänglichen Meerschweinchen und Kaninchen geradezu riesige Mengen, z. B. 200 Kulturen von toten oder lebenden Cholerabazillen und ihren gelösten Giften, ohne jede Erkrankung vertragen werden, und das, obwohl die Verdauungssäfte dem Cholergift keinen oder nur wenig Schaden tun. Beide erwähnten Auffassungen haben also nicht viel für sich. Nun gelingt es zwar nicht bloß die Infektion, sondern auch die Vergiftung vom Magendarmkanal aus dadurch zu befördern bzw. zu ermöglichen, daß man gleichzeitig andere schädliche Einflüsse, namentlich Opiumtinktur, auf den Körper der Versuchstiere wirken läßt. Wie diese Schädlichkeiten

1) Annal. Pasteur 1895.

irken, ist aber noch dunkel, und da sie unseres Wissens für die Entstehung der Cholera beim Menschen nicht in Betracht kommen, geben uns auch diese am Teil gelungenen Versuche keinen Aufschluß über die Art der Vergiftung. Man wird deshalb annehmen dürfen, daß die lebenden Bazillen die Darmwand so beeinflussen, daß sie Gift aufnimmt. Bestimmte Unterlagen dafür bietet uns die doppelte Erfahrung, daß bei der Cholera namentlich das Epithel des Darmes in weitestem Umfange verloren geht, und daß die Bazillen innerhalb und unterhalb desselben, ja auch noch darüber hinaus im eigentlichen Darmgewebe gefunden werden. Sie werden also wohl mindestens bei den von schwerer Infektion betroffenen Personen eine wenn auch beschränkte Angriffsfähigkeit für das Gewebe besitzen. Ist das einmal zugegeben, so würde sich die Aufsaugung ihrer Leibesgifte auf doppelte Weise erklären lassen: einmal aus der Aufnahme des im Darminhalt gebildeten Giftes durch die ihres Epithels beraubte Schleimhaut und zweitens aus der Auflösung der in das Gewebe selbst eingedrungenen Vibrionen. Welcher Anteil der wichtigere ist, bliebe noch auszumachen (vgl. Infektionslehre). Für die Cholera nostras gilt wohl dasselbe (vgl. S. 808).

§ 285. **Vibrionengifte.** Mit den Giften der Choleraspirillen scheinen die Giftstoffe der choleraähnlichen Kommabazillen, deren es namentlich im Wasser eine große Zahl gibt, wesentlich übereinzustimmen. Wenn sie trotzdem beim Menschen keine Cholera erzeugen, so liegt das wohl daran, daß sie nicht die Fähigkeit besitzen, im Darm desselben sich zu vermehren. Wir übergehen die namentlich beim Studium des *Spirillum Metchnikoff*¹⁾ und *Spirillum Massaua*²⁾ gewonnenen Erfahrungen, weil sie uns nichts Neues sagen. Insofern bleiben sie aber bemerkenswert, als gerade sie es waren, die Gamaleia und Pfeiffer zu ihren Untersuchungen über das Choleragift führten.

Besonders giftig ist eine andere Spirillenart, der *Vibrio Nasik*, da er nach R. Kraus³⁾ Kaninchen bei intravenöser Injektion von 4 tägigen oder älteren Bouillonkulturen in Gaben von 0,5—1 ccm binnen 15 Minuten, wahrscheinlich durch Herzbeeinflussung, tötet. Bei intraperitonealer oder subkutaner Einverleibung tritt der Tod bei Kaninchen und Meerschweinchen erst nach 1 bis mehreren Tagen ein, und Agarkulturen sollen viel weniger giftig sein. Das Gift geht wenigstens durch manche Filter hindurch, es wird durch Erwärmen auf 58° zerstört und durch Alkohol, Chloroform, Karbolsäure, Ammonsulfat geschädigt. Nur Toluol läßt es unberührt. Das Gift besitzt stark lösende Wirkungen auf rote Blutkörper, im Gegensatz zum Choleragift (§ 312). Es gelingt, Ziegen dagegen zu immunisieren. Doch zeigt sich die merkwürdige Tatsache, daß normales Ziegenserum in denselben Gaben gegen das Vibrionengift schützt, wie das Immunserum, wenn es vorher eine Stunde lang bei 37° mit ihm in Berührung bleibt. Das normale Antitoxin scheint bei der Immunisierung nur eine qualitative Änderung zu erfahren, indem es größere Verwandtschaft zum Vibrionengift annimmt. Nur gegenüber Mäusen geprüft, versagt das normale Antitoxin, während das des Immunserums auch hier schützt: das scheint dafür

1) Gamaleia, Annal. Pasteur 1889 und Semaine médicale 1890. 56; Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. 11, Sanarelli, Annal. Pasteur 1893 und besonders Wolkow, Arch. méd. expér. 1892.

2) Pfeiffer a. a. O.

3) Zentr. Bakt. 34. 488, 1903

zu sprechen, daß im Gesamtgifte verschiedene Gifte vorhanden sind (vgl. Pest).

§ 286. Typhusgift. Über das Gift des *Typhusbazillus* ist ebensowenig völlige Übereinstimmung erzielt worden, wie über das der Cholera (s. o.). Schon von den ersten Untersuchern wurde aber hier die Bedeutsamkeit der Leibesgifte festgestellt.

Umfangreiche Untersuchungen wurden schon von *Sirotnin*¹⁾ mit *Aufschwemmungen* von *Typhusbazillen* angestellt und zeigten, daß sie Kaninchen und Hunde auf dem Blutwege, Meerschweinchen und Mäuse vom Bauchfell und der Unterhaut aus, Meerschweinchen gelegentlich auch vom Magen aus töten, wenn sie in größeren Mengen einverleibt werden, und zwar sowohl wenn die Bazillen lebenskräftig, als wenn sie durch ca. zehnminutenlanges Erhitzen auf 100° abgetötet sind. Offenbar wird von den Bazillen aber auch ein lösliches Gift gebildet, denn Gelatinestrichkulturen, die durch sorgfältiges Abkratzen von den Bakterienrasen befreit und nachher noch auf 75° erwärmt wurden, waren ebenfalls noch giftig. *Sirotnin* hat meist ziemlich frische Kulturen benutzt, macht aber die Angabe, daß es besser wäre, ältere Kulturen zu verwenden, um möglichst viel „*Ptomain*“ zu erhalten. War doch gerade damals soeben das Typhotoxin von *Brieger* entdeckt worden (S. 818). Der Verlauf der Vergiftung ist wenig charakteristisch: leichte, aber auch schwerere und blutige Diarrhöe, in tödlichen Fällen Schwäche und Sinken der Temperatur, in nicht tödlichen Fieber und bei der Sektion katarrhalische Veränderungen, auch Hämorrhagien des Dünndarms, Schwellung der *Peyer'schen* Platten der Milz, und Mesenterialdrüsen beherrschen das Bild. Ähnliche Erscheinungen beobachtet man aber auch bei vielen anderen Bakterien, z. B. dem *Bac. neapolitanus* (*coli communis*), *Indicus* und wie *Beumer* und *Peiper*²⁾ gleichzeitig mit *Sirotnin* nachgewiesen haben, sogar bei den gemeinsten „*Saprophyten*“, wie *Bac. fluorescens liquefaciens* und *non liquefaciens*, *subtilis*, wenn man sie nur in genügend großer Menge einspritzt. Die letzteren beiden Forscher sprechen daher auch ausdrücklich der Vergiftung der Versuchstiere durch den *Typhusbazillus* den spezifischen Charakter ab. Auch sie arbeiteten ganz wesentlich mit lebenden oder abgekochten Aufschwemmungen der Bazillenleiber und weichen nur darin von *Sirotnin* ab, daß sie die lebenden Kulturen erheblich wirksamer fanden als die abgetöteten. Sie erklären das damit, daß die Bazillen, wenn sie auch schnell im Körper der Versuchstiere zugrunde gehen, doch noch Zeit finden, Gifte zu erzeugen und auszuscheiden.

Während die meisten späteren Autoren sich mehr mit den löslichen Giftstoffen (Sekretgiften) des *Typhusbazillus* beschäftigten, gingen *R. Pfeiffer* und *Kolle*³⁾ auf dem von *Sirotnin*, *Beumer* und *Peiper* angebahnten Wege weiter, indem sie die von *Pfeiffer* bei dem Studium des Choleragiftes gewonnenen Erfahrungen zur Richtschnur nahmen. Es stellte sich dabei heraus, daß die Verhält-

1) Zeitschr. f. Hyg. 1. 465, 1886.

2) Zeitschr. f. Hyg. 1. 489 und 2. 110, 1886/87.

3) Zeitschr. f. Hyg. 21, 1896.

nisse beim Typhusbazillus ähnlich liegen wie beim Choleraspirillum: das Gift findet sich ebenfalls in den Leibern junger Bazillen: es sind etwa 15 mg des Bakterienrasens von einer vorsichtig (durch einstündige Einwirkung von Chloroform oder Erwärmung auf 60°) abgetöteten 20stündigen Agarkultur nötig, um Meerschweinchen von 300 g Gewicht vom Bauchfell aus binnen 24 Stunden zu töten, während die 10—100fach kleinere Menge von lebenden Bakterien dazu genügt. Nicht nur die tödliche Gabe des Giftes ist ungefähr dieselbe, sondern auch die Vergiftung verläuft unter denselben Kollapserscheinungen wie bei der Cholera. Allenthalben ist der Pfeiffersche Befund bestätigt worden. Von Spezifität der Giftwirkung scheint also mindestens beim Meerschweinchen keine Rede zu sein. Das gleiche gilt aber anscheinend auch von der Wirkung der Typhusbazillenleiber auf Kaninchen und auf Hunde. Namentlich bei den letzteren werden wie bei anderen Endotoxinen bzw. den „sekundären“ Giften oder Bakterienproteinen hämorrhagische Darmentzündungen beobachtet (Selter S. 914). Die Veränderungen, die stärkere Erhitzung und ähnlich eingreifende Verfahren der in den Leibern enthaltenen Gifte bewirken, sind wie beim Choleragift gering: sie schwächen die Wirksamkeit des Endotoxins, ohne sie wesentlich zu verändern. Die Schwächung scheint aber zum mindestens was die Wirksamkeit gegenüber den Meerschweinchen anlangt, auch hier wie bei dem Choleragift nicht sehr erheblich zu sein (Pane und Lottis u.).

Die Lösung des Giftes aus den Leibern der Typhusbazillen ist wie bei den Cholerabazillen auf verschiedene Weise versucht worden.

Sie gelingt nach Hahn¹⁾ durch Auspressen der zerriebenen Bazillen unter hohem Druck, noch besser nach Macfadyen und Rowland²⁾, wenn man die Zerreibung bei der Temperatur der flüssigen Luft vornimmt. Der Preßsaft war aber auch erst tödlich in Mengen von 0,02—0,05 ccm, was einer sehr bedeutenden Bakterienmasse entspricht. Besser ist es, die Lösung des Giftes durch Zusatz von 10 Teilen 0,1prozentiger Kalilauge zu den zerkleinerten Bazillen zu befördern und dann auszuschleudern (Macfadyen³⁾). Die Lösung enthält nur 1% feste Bestandteile und war schon in Gaben von 1—2 Tropfen (intravenös) für Ziegen tödlich. In dem einen wie in dem anderen Falle verliert das Gift rasch seine ursprüngliche Wirksamkeit, länger aufbewahrte Zellsäfte haben geringe oder gar keine Giftigkeit. Über die Widerstandsfähigkeit gegen Hitze erfahren wir nichts. Es gelang Macfadyen mit diesem „Endotoxin“ ziemlich kräftige Antitoxine herzustellen.

Durch Behandlung mit chemischen und physikalischen Mitteln, die die Osmose erleichtern sollen, zog Balthazard⁴⁾ das Gift aus den

1) Münch. med. Woch. 1897. 48.

2) Zentralbl. Bakt. 34. 7/8, 1903.

3) Zentr. Bakt. 41. 266, 1906.

4) Thèse de Paris 1903, ref. Bull. Pasteur 1904, 35.

Leibern der Typhusbazillen aus. Doch ist das Ergebnis kein sehr befriedigendes, da eine Petrische Doppelschale der Kultur schließlich nur zwei tödliche Dosen Gift lieferte. Einfacher, aber noch weniger ergiebig ist das Verfahren von *Conradi*¹⁾, das übrigens vielleicht auf den älteren Erfahrungen von *Sirotnin*²⁾ aufgebaut ist: man braucht die Typhusbazillen nur in 0,8prozentige Kochsalzlösung aufzuschwemmen und 1 bis 2 Tage bei 37° zu halten. Das Filtrat davon kann bei 35° eingeeengt werden und tötet Meerschweinchen von 300 g vom Bauchfell aus in 24 Stunden in freilich verhältnismäßig großen Mengen. *M. Hahn*³⁾ erhielt ähnliche Ergebnisse mit dicken Aufschwemmungen von Bazillen in Kochsalzlösung oder Darmpreßsaft, und zwar war es ziemlich gleichgültig, ob er diese „Autolyse“ 2 Tage oder viel länger wirken ließ. Antitoxine ließen sich gewinnen, waren aber wenig kräftig. Man braucht auch nicht die Autolyse, sondern man kann schon durch *Ausschütteln* der lebenden Bazillen mit destilliertem Wasser bei gewöhnlicher Temperatur (*F. Meyer* u. *Bergell*⁴⁾) Gifte erhalten. Ähnliche Erfahrungen wurden mit chemischen Extraktionsmitteln gemacht. So engte *Bitter*⁵⁾ 14 tägige Kulturen der Typhusbazillen in 5prozentiger Glyzerinbouillon, denen er noch die Bakterienrasen von Agarkulturen zugesetzt hatte, im luftleeren Raum bei 30° auf den zehnten Teil ein und gewann daraus durch Filtration mittelst Kieselguhr ein haltbares Gift, das Kaninchen in Gaben von 0,5 bis 1,0 ccm von der Blutbahn aus schnell tötete. Nach *Bitter* soll dabei das *Glyzerin* (wie im Tuberkulin) als Extraktionsmittel für das Gift wirken. Mit noch besserem Erfolge benutzt *Besredka*⁶⁾ zum Ausziehen des Giftes aus den trockenen Bazillen das *normale Pferdeserum*. Die Bazillen werden dadurch so vollständig von ihrem Gift befreit, daß sie erst in der zehnfachen Gabe für Meerschweinchen tödlich sind. Später⁷⁾ zog er ein anderes Verfahren vor: etwa eine Stunde bei 60° erhitzte Aufschwemmungen von Typhusbazillen in Kochsalzlösung wurden im Vakuum getrocknet und mit $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ Teil Kochsalz verrieben. Dann setzt man unter beständigem Verreiben tropfenweise destilliertes Wasser zu und füllt bis zur Konzentration einer physiologischen Lösung auf. Durch zweistündiges Erhitzen auf 60° und Absetzenlassen erhält man schließlich die Giftlösung, die sehr haltbar ist und sogar Temperaturen von 120° verträgt. 0,125 bis 0,25 ccm töten Meerschweinchen, 1,—1,5 ccm Kaninchen. Auch *Besredka* gewann mit diesem Gift ein antitoxisches Serum. Weitere Verfahren, um das Gift den Bazillen zu entziehen, sind die Darstellung des *Nukleoproteids* durch 0,5% Natronlauge (*Turro*⁸⁾), die *Verdauung* mit *Trypsin* (*Matthes* und *Gottstein*⁹⁾), die *Behandlung* mit wasserfreier Salzsäure (*Meyer* und *Bergell* s.o.).

1) Deutsch. med. Woch. 1903. 2. vgl. Neisser und Shiga ebenda 1903. 4.

2) Zeitschr. f. Hyg. 4. 289, 1888.

3) Münch. med. Woch. 1905. 23.

4) Berl. klin. Woch. 1907. 18.

5) Zeitschr. f. Hyg. 12, 1892.

6) Annal. Pasteur 1905.

7) Ebenda 1906.

8) Soc. biol. 20. VII. 1907.

9) 24. Kongr. f. innere Medizin 1907.

Es bedarf aber nach unseren Erfahrungen (P a n e und L o t t i, B ü r g e r s und H ö s c h, J e s s n e r, vgl. § 319) gar nicht dieser mehr oder weniger umständlichen Verfahren, um das Endotoxin der Typhusbazillen in Lösung zu bringen; wie bei den Choleravibrionen genügt es, die Bazillen — in kleinen Mengen Kochsalzlösung (1 ccm auf $\frac{1}{2}$ —1 Agarkultur) aufgeschwemmt — bei 55—65° 1—2 Stunden lang zu erhitzen und dann die ausgeschleuderte, wenn man will, noch filtrierte klare Flüssigkeit zu benutzen. Sie tötet Meerschweinchen von der Bauchhöhle aus in Gaben von etwa 1 Agarkultur binnen 20 Stunden, und zwar gleichgültig, ob die Bazillen virulent oder nicht virulent sind. Kochen des Extraktes verringert die Wirksamkeit etwa auf die Hälfte. Sehr wahrscheinlich beruht die starke Wirksamkeit der von M. N e i ß e r und S h i g a durch „Autolyse“ erhaltenen Typhusgifte (s. o.) auch nur auf der vorhergehenden Erhitzung.

Wie bei den Cholerabazillen lassen sich aber auch Gifte aus flüssigen Kulturen der Typhusbazillen durch F i l t r a t i o n gewinnen. Man kann sie als Sekretgifte (Ektotoxine) bezeichnen, zum Teil enthalten sie aber sicher auch die gewöhnlichen Endotoxine.

Züchtet man freilich die nicht besonders ausgesuchten Bazillen in gewöhnlicher Bouillon, so sind die Filtrate davon nach einigen Tagen so gut wie ungiftig und töten mit Sicherheit selbst nach einigen Wochen Wachstums Meerschweinchen von 300 ccm höchstens in Mengen von 4 bis 6 ccm (S a n a r e l l i ¹), P f e i f f e r und K o l l e). R o d e t, L a g r i f f o u l und W a h l b e r g ²) geben sogar an, daß unter den günstigsten Umständen, wenn die Bouillon den Bazillen nur in dünner Schicht, d. h. bei reichlichem Sauerstoffzutritt dargeboten und für starke Alkalisierung Sorge getragen wird, das Filtrat erst in Gaben von 4—6% des Körpergewichts für Meerschweinchen (intraperitoneal) und von 0,75% für Kaninchen (intravenös) tödlich wird. Kräftiger soll das Filtrat erst wirken, wenn man die Typhusstämme auswählt und auf b e s o n d e r e n N ä h r b ö d e n züchtet. C h a n t e m e s s e ³) nimmt dazu ein Verdauungsprodukt von Pferdemiß, das er sich selbst mit Pepsin und Salzsäure herstellt. 5- bis 6tägige Kulturen sind am giftigsten, immerhin töten auch erst 10 ccm, intravenös eingespritzt, Kaninchen von 2 kg. Aber selbst dafür ist die V o r a u s s e t z u n g, daß die Bazillen von v o r n h e r e i n eine hohe Giftigkeit besitzen, eine Eigenschaft, die verhältnismäßig selten zu sein scheint und durch Übertragung auf Tiere durchaus nicht immer hervorzurufen ist. Mittels seines Typhusgiftes gewann C h a n t e m e s s e ein Serum, das antitoxisch wirken soll. Später haben auch andere Forscher mit giftigen Filtraten antitoxische Sera hergestellt, so K r a u s und v o n S t e n i t z e r ⁴), M e y e r und B e r g e l l (s. o.) solche aus gewöhnlicher Peptonbouillon.

1) Annal. Pasteur 1894. 199 (empfiehlt subkutane Impfung).

2) Arch. méd. expérim. 1904. 404 und Zentr. Bakt. 36.

3) Presse médicale 1898 und 1902.

4) Wien. klin. Woch. 1907. 12.

Aronson¹⁾ legte Wert darauf, ein üppiges Oberflächenwachstum der Bazillen zu erzielen. Die Hauptsache ist auch hier wohl wieder wie bei der Gewinnung der Ektotoxine von Cholera vibrionen die Eigenart des benutzten Stammes.

Mit Filtraten arbeitete auch Lange²⁾; er filtrierte aber nicht künstliche Kulturen, sondern das Exsudat, das sich unter dem Einfluß der Typhusbazillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens bildet. Da es sich schon zu einer Zeit giftig erwies, wo die Bazillen im Exsudat noch auf der Höhe ihrer Lebensfähigkeit standen, so schließt Lange daraus, daß das Gift von den lebenden Bazillen ausgeschieden würde. Sicher ist dieser Schluß aber keineswegs, da wir wissen, daß im ganzen Verlauf der Infektion Bazillen in der Bauchhöhle absterben. Schließlich scheint auch die Giftmenge in dem filtrierten Exsudat im Vergleich zu der Zahl der im Exsudat vorhandenen Bazillen keine sehr bedeutende zu sein. Die „Aggressinversuche“ Bails u. a. (§ 319 u. 321) beweisen das, Bails selbst³⁾ hat in Kaninchenexsudaten eine höhere Giftigkeit beobachtet, aber nur für Kaninchen.

Nach der Meinung der meisten Forscher wäre das Filtratgift nicht als ein Sekret, sondern als ein Endotoxin zu betrachten, das erst aus den absterbenden Bazillen frei wird. Einen unmittelbaren Beweis dafür haben Rodet, Lagriffoul und Wahlberg erbracht, indem sie die Giftigkeit der Filtrate und der auf dem Filter zurückbleibenden Bazillenleiber miteinander verglichen⁴⁾: in jüngeren Kulturen waren die letzteren, in älteren die ersteren giftiger. Die Autoren selbst neigen freilich der Ansicht zu, daß die Bazillen das Gift bei lebendigem Leibe sezernieren, weil die lebenden Bazillen kräftigere Giftwirkungen entfalten, als die in irgendeiner Weise abgetöteten oder freiwillig abgestorbenen. Man kann diese letztere Tatsache hier wie bei der Cholera zugeben, wird sie aber wohl besser in dem Sinne deuten, daß die Art, wie das Absterben erfolgt, nicht gleichgültig ist: der lebende Körper vermag das Gift aus den Bazillen entweder vollständiger auszulaugen oder schädigt es dabei weniger (vgl. das Anaphylatoxin § 344). Wenn man hieran festhält, so ist es nichtsdestoweniger sicher, daß eine besonders starke Giftigkeit der Typhusbazillen nur einzelnen Typhusstämmen eigen ist.

Wie bei der Cholera und der Dysenterie u. a. scheint es sich also bei dem Filtratgift des Typhus um ein oder mehrere zu den gewöhnlichen Endotoxinen hinzutretende Gifte zu handeln, die wegen ihrer Unbeständigkeit im allgemeinen keine große Bedeutung haben werden. Beim Zustandekommen der Typhusvergiftung fällt die Schwierigkeit fort, die sich unserem Verständnis der Choleravergiftung dadurch entgegenstellte, daß wir erst die Aufnahme der Endotoxine in die Säfte beweisen

1) Berl. klin. Woch. 1907.

2) Compt. rend. soc. biol. 1905. 771.

3) Wien. klin. Woch. 1907.

4) Ein einwandfreies gesondertes Studium des Filtrats und der Bakterienleiber gelang freilich nicht, denn die ganze Kultur war giftiger als die Mischung von Filtrat und Leibern; es muß also bei der Filtration ein Teil des Giftes verloren gegangen sein, wenn nicht der Unterschied auf der ungleichen Konzentration des Giftes beruht.

nüssen. Ist doch der Typhus im Gegensatz zu der Cholera im wesentlichen eine Gewebs-, ja im gewissen Sinne eine Blutinfektion¹⁾.

§ 287. **Paratyphus- und Fleischgift.** Dem Typhusbazillus schließt sich eng an die Gruppe des Paratyphus²⁾ — auch Hogcholera oder Salmonellagruppe genannt —, zu der die *Bac. enteritidis*, *paratyphi A* und *B*, des Mäusetyphus, der Schweinepest und noch manche andere für Tiere und Menschen pathogene Bakterien gehören. Die giftigsten unter ihnen scheinen die Bazillen der unter dem Bilde des Brechdurchfalls verlaufenden Fleischvergiftungen — nicht zu verwechseln mit der sog. Wurstvergiftung (§ 282) — zu sein, die freilich zum Teil wieder von denen des Paratyphus nicht zu trennen sind. An erster Stelle ist zu nennen der *Bac. enteritidis* Gärtner's³⁾, dessen Gift als kochfest bezeichnet wird und Mäusen, Meerschweinchen, Affen ebenso wie Menschen auch bei Verfütterung gefährlich ist. Er wurde bei einer ganzen Reihe von Epidemien z. B. von v. Ermengem, de Nobele, B. Fischer⁴⁾ wiedergefunden. Das Gift steckt ursprünglich wohl in den Bakterienleibern und kann aus ihnen unmittelbar oder durch Autolyse⁵⁾ gewonnen werden, geht aber auch in älteren Kulturen in Lösung über, ist also sowohl in frischen Agarrasen wie in Filtraten anzutreffen. Beispielsweise töteten von dem Stamm der Haustedter Epidemie (Fischer) schon 0,8 mg eines bei 55° abgetöteten Bakterienrasens Meerschweinchen von 220 g binnen 24 Stunden. Andererseits tötete das Filtrat einer 7tägigen Bouillonkultur aus der Rumflether Epidemie⁴⁾ Mäuse (intraperitoneal) zu 0,1 ccm, Kaninchen (intravenös) zu 3 ccm und machte Meerschweinchen zu 0,5 ccm wenigstens sehr krank. Ähnlich verhalten sich die Gifte des von Känische, Trautmann u. a. untersuchten Fleischvergiftungsbazillus (*Bac. Breslaviensis*), der sonst die größte Ähnlichkeit mit dem Paratyphusbazillus B hat. Die Gifte des letzteren sollen freilich nach Kutscher und Meinicke⁶⁾ u. a. nicht kochfest sein oder wenigstens in gekochtem Zustand Mäuse erst in Gaben, die sehr groß sind ($\frac{1}{2}$ Agarkultur) töten.

1) Über die mangelnde Giftigkeit bei Einspritzung in den Magen oder Darm vgl. Sirotinin, Beumer und Peiper (a. a. O.), Sannarelli (Annal. Pasteur 1892 und 1894), Tschitkine (ebenda 1904).

2) Vgl. Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. 45. 168, 1903, van Ermengem im Handb. der path. Mikroorgan. 2. 639, 1903 und Kutscher, ebenda Ergänzungsband 1, 1907.

3) Korrespondenzbl. allgem. ärztl. Verein Thüringens 1888. 9.

4) Zeitschr. f. Hyg. 39, 1902.

5) Cathcart, Journ. of hyg. 1906.

6) Zeitschr. f. Hyg. 52, 352.

Nach dem, was wir früher über die verhältnismäßig geringe Abschwächung des Cholera- und Typhusendotoxins durch die Siedehitze gesagt, sollte man die Kochfestigkeit des Fleischgiftes nicht für eine bemerkenswerte Eigenschaft desselben halten. Indessen sind die für diese Versuchstiere tödlichen Gaben des Giftes so gering und weicht deren Fähigkeit, vom Darmkanal aus zu wirken, so von der aller übrigen Endotoxine ab, daß man vielleicht berechtigt ist, das Fleischgift doch als einen besonderen Stoff anzusehen, der von diesen Bazillen neben dem gewöhnlich schwächer wirksamen Endotoxin in wechselnder Menge gebildet wird. Möglich wäre es, daß gerade besonders stark infektiöse Paratyphusbazillen, wie sie Kutscher und Meinicke prüften, dieser „spezifischen“ Giftigkeit entbehrten. Nur da, wo das Fleischgift außerhalb des Körpers in den Nahrungsmitteln in genügender Menge erzeugt wird, könnte man die akuten Symptome des Brechdurchfalles als Folge seiner Einverleibung erwarten¹⁾.

Mäuse typhusbazillen sollen nach Löffler²⁾ — allerdings in getrocknetem Zustande — auch noch nach zweistündiger Erhitzung auf 120° in Gaben von 0,001—0,1 für Feldmäuse tödlich sein.

Für die gleichfalls hierher gehörigen Schweinepestbazillen (Suipestifer, Hogcholera) liegen mehr Erfahrungen vor. Als tödliche Mindestgabe der durch Chloroform abgetöteten Bakterien ermittelte Voges³⁾ 10 mg für Meerschweinchen von 200—300 g bei intraperitonealer Einspritzung. Das ist ungefähr dieselbe Menge, die wir auch bei Cholera- und Typhusbakterien gefunden haben. Die Giftigkeit der Bazillen war die gleiche bei Abtötung durch Toluol oder 2½ prozentiges Karbol, etwas geringer nach Behandlung mit 1prozentigem Trikresol oder einstündigem Kochen, am geringsten, d. h. kaum halb so groß nach halbstündiger Einwirkung von Alkohol absolutus. Wir haben also auch beim Bac. suipestifer ein hitzebeständiges Gift in den Leibern, das aber viel weniger kräftig ist als das des Bac. enteritidis, also wohl der spezifischen Eigenschaften entbehrt. Vielleicht kommen daneben aber unter Umständen noch andere Giftstoffe vor.

Das Sucholotoxin de Schweinitz' wurde schon unter den Pto-mainen (§ 259) erwähnt; derselbe Forscher⁴⁾ stellte aus 3 Wochen alten Milchkulturen von Hogcholera-bakterien durch Fällen mit Alkohol, Auflösen in Wasser, Niederschlagen mit basischem Kalziumphosphat, noch-

1) Vgl. auch Trautmann, ebenda 48.

2) Gedenkschrift f. Leuthold, I, 1906.

3) Zeitschr. f. Hyg. 23. 207, 1896.

4) 15. annual report of the bureau of chemical industry for 1898 S. 266, 1899.

naliges Auflösen mit Wasser und Fällen mit Alkohol ein „Enzym“ dar, das Gelatine, Fibrin, Albumin und Stärke auflöste und daneben auch in Gaben von 0,05 g tödliche Vergiftung von Meerschweinchen erzeugte. Bemerkenswert sind ferner die Ergebnisse von S e l a n d e r ¹⁾, M e t s c h n i k o f f ²⁾ und S i l b e r s c h m i d t ³⁾. Sie fanden, daß sehr bazillenreiches Blut von Kaninchen, die an ganz akuter Hogcholera zugrunde gegangen waren, bei 57° eine Stunde lang erhitzt und dadurch sterilisiert, andere Tiere derselben Art schon in verhältnismäßig geringer Menge (0,5—3,5 ccm) tödlich vergiftete. Wir haben hier also die sonst nicht beobachtete Tatsache (s. die folgenden Paragraphen), daß Tiere, die an Bakterien-septizämie sterben, schon in einem kleinen Bruchteil ihres Blutes soviel Gift enthalten, daß andere Tiere derselben Art und Größe dadurch getötet werden. Geringere Blutmengen rufen eine länger dauernde Vergiftung hervor. Wird das Blut bei 60° sterilisiert, so verliert es viel von seiner Wirksamkeit, ebenso durch Filtration. Man sollte danach denken, daß das Gift im Blutserum nachweisbar bliebe, wenn es durch Ausschleudern von Bakterien befreit würde. Das ist aber nach E. L e v y und B e c k m a n n ⁴⁾ nicht der Fall. Selbst in großen Gaben (bis zu 45 ccm) war es für andere Tiere derselben Art ungiftig, wenn man von einer Temperatursteigerung, die auch bei Einspritzung normalen Blutes eintritt, absieht. Ob sich dieses abweichende Ergebnis vielleicht durch eine geringere Virulenz der von L e v y und B e c k m a n n benutzten Schweinepestbazillen erklärt, steht dahin (vgl. auch Milzbrand § 292).

Bouillonkulturen sind übrigens nach S e l a n d e r u. a. bemerkenswerterweise viel weniger giftig, als Blut, obwohl sie ebensoviel Bazillen enthalten als das letztere, ein Zeugnis dafür, wieviel unter Umständen auf die Beschaffenheit des Nährbodens ankommt.

Die Giftigkeit der Schweinepestbazillen für S c h w e i n e studierten neuerdings U h l e n h u t h , H ü b e n e r , X y l a n d e r und B o h t z ⁵⁾. Sie fanden, daß bei 60° abgetötete Bazillenleiber intravenös eingespritzt Tiere unter ähnlichen Erscheinungen, d. h. namentlich mit hämorrhagisch-diphtherischen Veränderungen im Dickdarm erkranken ließen, als lebende Bazillen. Eigentümlich sind diese Wirkungen aber nicht, denn Bac. enteritidis, B. coli, dysenteriae (und schließlich das filtrierbare Virus der eigentlichen Schweinepest) verursachten ähnliche Erscheinungen, die der Endotoxinvergiftung der Fleischfresser ähneln (S. 914).

Hitzeempfindliche Giftstoffe haben ferner K r a u s und v. S t e n i t z e r ⁶⁾ aus manchen Paratyphus-, Mäusetyphus- und Schweinepestkulturen gewonnen. Sie sollen dem Typhusgifte derselben Forscher (S. 939) ähnlich sein und auch von den Typhusantitoxinen neutralisiert werden. Bisher ist es sonst noch nicht gelungen, Tiere gegen die Gifte der Para-

1) Annal. Pasteur 1890.

2) Ebenda 1892.

3) Ebenda 1895.

4) Zentr. Bakt. 43, 1907.

5) Arbeit. d. Gesundheitsamts 30. 69, 1909.

6) Wien. klin. Woch. 1907. 25.

typhusgruppe, z. B. des *Bac. enteritidis*¹⁾ oder *suipestifer*²⁾ zu immunisieren. Die wiederholt geimpften Tiere erwiesen sich *V o g e s* sogar widerstandsloser gegen das Gift des *Suipestifer* als normale.

Die Vergiftung von Tieren und Menschen durch die Bazillen der Paratyphusgruppe ähnelt in vielen Beziehungen der durch den Typhusbazillus (§ 286). Doch treten, wenigstens bei den kleinen Versuchstieren, wenn der Tod nicht zu schnell erfolgt, bei der Paratyphusvergiftung häufig noch spezifische Symptome hervor, nämlich *L ä h m u n g e n*³⁾, die an den Hinterbeinen anfangen, auch Krämpfe und in den inneren Organen, besonders der *L e b e r*, *h e r d f ö r m i g e G e w e b s n e k r o s e n*. Die letzteren Veränderungen, die beim Typhus auch nicht ganz fehlen, bei der (bazillären) Hogcholera bedeutenden Umfang erreichen, verdanken nicht etwa Gefäßverstopfungen durch Bakterien ihren Ursprung, sondern sind Wirkungen des gelösten Giftes⁴⁾.

§ 288. *Gifte des Colibazillus.* Die Gifte des *Bac. coli communis* oder vielmehr der ganzen hierher gehörigen großen Gruppe verwandter Bakterien (einschl. des *Bac. aërogenes, pneumoniae*, der Kapselbazillen usw.) sind bisher nur wenig studiert worden. Was man davon weiß, entspricht im allgemeinen der Schilderung, die wir von dem Gifte des Typhusbazillus entworfen haben. Doch werden wohl Unterschiede vorkommen. Nach *S a n a r e l l i*⁵⁾ wären die Wirkungen des *B. coli* auf den Verdauungskanal — vom Blute aus — lange nicht so heftig, als die des Typhusbazillus. Nach *C e l l i*⁶⁾ sollen die Abarten des *B. coli* je nach ihrem Ursprung verschiedene toxische Wirkungen auf den Darm der Fleischfresser (Hunde und Katzen) hervorrufen: der *Bac. coli* der Pflanzenfresser soll ihn gar nicht beeinflussen, der des Menschen blutige Entzündungen im Dünndarm, der von Dysenteriefällen und aus dem Darm junger Katzen stammende „*Bac. coli dysentericus*“ ebensolche im Dickdarm verursachen.

1) *F i s c h e r* a. a. O.

2) *S e l a n d e r*, *V o g e s* a. a. O.

3) Auch von *C i t r o n* bei Immunisierungen mit Schweinepest beobachtet (*Zeitschr. Hyg.* 53, 545).

4) Vgl. z. B. *F i s c h e r* a. a. O., S. 478. *B o x m a y e r* (*Journ. of medic. research.* 1903) und *M a l l o r y* (*Journ. of experim. medic.* 1903) erklären sie teils durch Verklumpung einzelner großer Zellen, die phagozytäre Eigenschaften besitzen sollen, über deren Herkunft aber Zweifel bestehen, teils durch hyaline Thromben aus roten Blutkörpern, teils durch unmittelbare Veränderungen der Leberzellen durch das Gift, während es fraglich sei, ob hyaline Entartung der Kapillaren allein Nekrosen machen könne. Über entsprechende Veränderungen durch das Diphtheriegift vgl. *W e l c h* und *F l e x n e r*, *John Hopk. Hosp. Bull.* 1891, Nr. 15 und *B a b e s* *Baumg. Jahresb.* 1891. 231. S. auch § 318 und *Infektionslehre*.

5) *Annal. Past.* 1894. 38.

6) *Annali d'igiene sperim.* 1896 vgl. auch *V a l e n t i*, *Zentralbl. Bakt.* 25, *C e l l i* in der *Leyden-Festschrift* 1, 1900, *V a l a g u s s a*, *Annali d'igien.* 1900.

Die Wirkung des Giftes tritt ein nach Einspritzung in den Mastarm, unter die Haut oder ins Blut, nicht nach Fütterung oder Einführung in das Duodenum. Das Gift läßt sich aus dem Filtrat 3—12 tägiger Bouillonkulturen durch Fällung mit 2 Teilen Alkohol oder durch Extraktion der auf Agar gewachsenen Leiber mit 1prozentiger Natronlauge gewinnen. 10 mg des trockenen Niederschlags¹⁾, entsprechend ungefähr 10 ccm Filtrat, töten junge Kätzchen von der Subkutis aus. Auch das Blut von Dysenteriekranken oder an der Vergiftung gestorbenen Katzen soll das Gift enthalten. Durch Temperaturen über 80° soll es zerstört werden. Sehr empfindlich ist der Esel gegen das Cellische Gift. Er läßt sich aber daran gewöhnen und liefert schließlich ein Serum, das auch am ruhrkranken Menschen antitoxische Eigenschaften entfalten soll (Celli und Valagussa).

Die Angaben Cellis verlieren an Wert durch die Feststellung, daß alle möglichen anderen Leibesgifte von Bakterien bei Fleischessern ganz ähnlich wirken, wie das des *B. coli dysentericus*. Schon Sluys (S. 931, Anm. 1) erzeugte mit reinem Choleragifte bei Hunden hämorrhagische Darmentzündungen, die sich vorwiegend im Dickdarm, daneben aber auch im obersten Teil des Dünndarms lokalisierten, und hebt ausdrücklich hervor, daß das Gift¹⁾ des gewöhnlichen Colibazillus die gleichen Eigenschaften habe. Wir haben dann die Sache weiter studiert und mit vielen anderen Bakteriengiften die gleichen Ergebnisse gehabt (S. 914). Es handelt sich offenbar bei den einzelnen Bakterien nur um quantitative Unterschiede. Auch die Wirkung auf andere Tiere (Meerschweinchen und Kaninchen) ist nach Sluys beim Cholera- und Colibazillengift die gleiche. Nur überwiegt bei den Pflanzenfressern die Veränderung des Dünndarms.

Neuerdings haben Carega, Vaughan und Wheeler aus Colibazillen Gifte mit besonderen Eigentümlichkeiten dargestellt, über die das letzte Wort noch nicht gesprochen ist.

Nach Carega²⁾ erhält man durch Eindicken 12 tägiger Bouillonkulturen bei 45°, Niederschlagen mit Alkohol und Ausziehen des Niederschlags mit 0,5 prozentiger Natronlauge ein lösliches, durch Essigsäure fällbares „Nukleoalbumin“ und ein unlösliches „Nuklein“. Das erstere tötet in Gaben von 0,02 g auf das kg Kaninchen binnen wenigen Minuten vom Blute aus und ist kochfest, das zweite tötet ebenso schnell in Gaben von 0,06—0,15, wird aber durch Kochen zerstört. Nach Vaughan und Wheeler³⁾ bewirken die abgetöteten getrockneten und mit Alkohol und Äther entfetteten Leiber der Colibazillen bei Meerschweinchen vom Bauchfell aus in Gaben von 5—10 mg schnellen Tod unter den Erscheinungen einer blutigen Peritonitis und einem Temperatur-

1) Nach Valagussa (s. o.) waren 100—500 mg nötig.

2) Zentr. Bakt. 34, 1903.

3) Journ. americ. medic. association 1905; Journ. of medic. research 1905 vgl. Bull. Pasteur 1905. 841 u. 1906, 576.

abfall, der nach einer Wartezeit von 4 Stunden eintreten soll. Aus diesem in Wasser unlöslichen Bazillenpulver erhält man ein in Wasser und Alkohol lösliches Gift dadurch, daß man es mit einer 2 prozentigen Lösung von Natriumhydroxyd in absolutem Alkohol auskocht und dann mit Salzsäure neutralisiert. Dies Gift tötet Meerschweinchen schon in 8—10 mal kleineren Gaben und binnen einer Stunde, also fast ohne Wartezeit, u n t e r K r ä m p f e n durch Stilllegung der Atmung und verursacht keine Peritonitis, ist also dem ursprünglichen Coligift unähnlich. Der Rückstand ist in Wasser löslich, aber ungiftig. Ganz ähnliche Erfahrungen machten nun aber V a u g h a n und W h e e l e r ¹⁾, wenn sie Eiweiß u. dgl. einer ähnlichen Behandlung unterwarfen; auch aus diesen an sich ungiftigen Körpern ließ sich ein alkohollösliches Gift mit gleichen Eigenschaften, wie sie ihr Coligift besaß, und ein ungiftiger Rückstand gewinnen. Diese Ergebnisse beweisen unseres Erachtens in erster Linie, wie vorsichtig man sein muß, wenn man eingreifende Methoden zur Darstellung von Giften anwendet. Sie sind aber auch dazu benutzt worden, die Frage der sog. Ü b e r e m p f i n d l i c h k e i t zu klären. Die Krankheitserscheinungen, welche die mit alkalischem Alkohol aus Bakterien- und Eiweißstoffen erhaltenen Gifte verursachen, stimmen nämlich überein mit dem Vergiftungsbilde beim überempfindlichen Tier. N i c o l l e ²⁾ hat, wie wir weiter unten (§ 344) sehen werden, darauf eine Theorie der Überempfindlichkeit gegründet. Die bei der Behandlung von Tieren mit Giften oder Eiweißkörpern entstehenden Antikörper („Toxino-“ und „Albuminolysine“) sollen nämlich das von V a u g h a n gefundene akute Gift erzeugen. Über eine von F r i e d b e r g e r auf eigene Versuche gestützte Abänderung dieser Theorie s. a. a. O.

§ 289. **Ruhrgifte.** Die Giftigkeit der e c h t e n R u h r b a z i l l e n fällt jedem, der versucht, Tiere mit ihnen zu immunisieren, auf: die meist benutzten Kaninchen vertragen die Behandlung besonders schlecht, und auch Pferde oder Esel reagieren schon auf Bruchteile von Agarkulturen, die bei 60° sterilisiert sind, sehr stark, ja gingen uns sogar einige Male schon in der ersten Zeit der Behandlung zugrunde. Die nähere Prüfung der Giftstoffe hat verwickelte Verhältnisse aufgedeckt.

C o n r a d i ³⁾ war der erste, der nachwies, daß abgetötete Ruhrbazillen oder ihre durch Autolyse erhaltenen Stoffe Kaninchen nach Einspritzungen ins Blut unter charakteristischen Vergiftungserscheinungen, unter denen namentlich L ä h m u n g e n und b l u t i g e E n t z ü n d u n g e n im B l i n d d a r m und D i c k d a r m hervortreten, töten. N e i ß e r und S h i g a ⁴⁾ erhielten dasselbe Bild mit Giften, die sie durch mehrtägigen Aufenthalt auf 60° erhitzter Bazillen bei 37° aus diesen ausgezogen hatten, nach ähnlichem Verfahren auch V a i l l a r d und D o p-

1) Journ. of infect. diseases 1907; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1, 1909.

2) Annal. Past. 1908. 1—3.

3) Deutsch. med. Woch. 1903. 2, vgl. auch v. D r i g a l s k i in der Veröffentl. aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens H. 20, 1902.

4) Ebenda 1903. 4.

er¹⁾, Flexner und Sweet²⁾, während Rosenthal³⁾, Todd⁴⁾, Kraus und Dörr⁵⁾ mit Filtraten älterer Kulturen in alkalischer Bouillon, Lüdke⁶⁾ mit dem Saftetrockneter, in flüssiger Luft zerriebener Bazillen, Besredka⁷⁾ mit der beim Typhusbazillus (S. 938) beschriebenen Serum-Extraktionsmethode, Kraus und Dörr durch einfaches Auswaschen der Bazillen mit Kochsalzlösung, Kikuchi⁸⁾, Flexner und Sweet durch keimfrei zentrifugierte Exsudate aus der Bauchhöhle infizierter Meerschweinchen Erfolg hatten.

Vergleichende Versuche von bedeutendem Umfange, die diese Befunde im wesentlichen bestätigten und erweiterten, wurden außer von Dörr, von Kollé, Heller und de Mestral⁹⁾, E. Schottelius¹⁰⁾, sowie von mir¹¹⁾ und meinen Mitarbeitern, namentlich Selter¹²⁾ hergestellt. Als bestes und einfachstes Verfahren zur Gewinnung des für Kaninchen tödlichen Giftes beherrschte sich uns die Ausschleuderung der 2 Stunden lang bei 60—65° erhitzten Bazillenaufschwemmung in wenig Kochsalzlösung (1 Agarkultur auf 0,5 ccm). Von diesem Extrakt tötete durchschnittlich $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{40}$ Agarkultur, entsprechend 1 mg suchter Bazillen, bei manchen Stämmen war mehr erforderlich, bei einigen genügte weniger, selbst der 30. Teil der genannten Gabe (0,03 mg, d. h. etwa 0,003 des trockenen Extraktes). Durch wiederholte und längere Erhitzung bei 60° wird das Gift den Bazillen zum größten Teil entzogen, es ist also zwar ein „Endotoxin“, aber lockerer gebunden als z. B. das Cholera Gift. Autolyse, oder Ausschütteln der Bazillen in Wasser ergeben weniger kräftiger Gifte, aber die Filtration 2—3 Wochen alter stark alkalischer Bouillonkulturen solche von ähnlicher Wirksamkeit. Man könnte daher ebensogut von einem „Ektotoxine“ sprechen.

Die wichtigsten und allein beständigen Erscheinungen beim Kaninchen bestehen in Lähmungen, die von hinten nach vorn schreiten und in Tagen oder Wochen unter Hinzutreten klonischer Krämpfe zum Tode führen. Nur in einem Teil der Fälle — nach unseren eigenen Beobachtungen ziemlich selten, nach anderen häufiger (bis zu 33%¹³⁾) — meldet sich die oben erwähnte hämorrhagische Typhlitis. Subkutane Einverleibung tötet Kaninchen viel weniger sicher und gewöhnlich erst in größeren Gaben. Von

1) Annal. Pasteur 1903.

2) Journ. of experim. med. 1906.

3) Deutsch. med. Woch. 1904. 7.

4) Journ. of hyg. 1904.

5) Wien. klin. Woch. 1905, 7 und 42; Zeitschr. f. Hyg. 55, 1906; vgl. auch Dörr, Das Dysenterietoxin 1907 mit Lit.

6) Zentr. Bakt. 38, 1905.

7) Annal. Pasteur 1906.

8) Arch. f. Hyg. 52, 1905.

9) Arbeiten des Instit. f. Infekt. Bern 1908; vgl. Zentr. Bakt. Ref. 42. Bd. Beilage S. 30.

10) Med. Klinik 1908. 32.

11) Deutsch. med. Woch. 1907. 9. Verh. Naturf. Gesellsch. Köln 1908, II. 2, 570.

12) Zeitschr. f. Immunitätsforschg; 5, 1910.

13) Ob diese Schwankungen davon abhängen, daß gewisse Bestandteile der Gifte veränderlich sind, steht dahin.

der Darmoberfläche aus wirken selbst nach unmittelbarer Einspritzung in den Dünndarm größte Mengen nicht. Den nervösen Erscheinungen liegt eine Poliomyelitis anterior (D o p t e r ¹⁾, D ö r r) zugrunde, D ö r r konnte aber eine besondere Verwandtschaft der Nervensubstanz zu dem Gift ebensowenig feststellen, wie eine solche der betreffenden Abschnitte der Darmwand. F l e x n e r und S w e e t sowie D ö r r nehmen zur Erklärung der Entzündung des Darms an, daß durch ihn das Gift ausgeschieden werde, die ersteren, daß auch die Leber das tue. Das erstere ist nicht bewiesen, das letztere durch D ö r r widerlegt. Das gelöste Gift wird durch Hitzegrade zwischen 75 und 85° angegriffen und schließlich, wenn auch langsamer als durch die Siedehitze, zerstört. Durch Alkohol und andere Eiweißfällungsmittel wird es mitgerissen und kann aus dem Niederschlag, aber nur mit Verlust, wiedergewonnen werden. 24stündige Verdauung in Pepsinsalzsäure schädigt das Gift (F l e x n e r und S w e e t), nicht Behandlung mit Glyzerin, Trypsin, Darmsaft oder Galle (D ö r r), wohl wieder längere Verdauung mit Trypsin (F l e x n e r und S w e e t, wir selbst). Die Dünndarmwand des Kaninchens, nicht die anderer Tiere oder Darmteile, entzieht merkwürdigerweise das Gift seinen Lösungen (D ö r r). Kaninchen sind schwer, größere Tiere, namentlich Pferde und Esel, leicht gegen das Gift zu immunisieren, von den letzteren erhält man dann, wie seit R o s e n t h a l und T o d d alle Forscher festgestellt haben, sehr kräftige Antitoxine und zwar gleichgültig, ob man mit Filtrat- oder Extraktgiften behandelt.

A f f e n sind bei Einspritzung ins Blut für dieses hitzeempfindliche Gift ähnlich empfänglich wie die Kaninchen, vertragen aber von der Unterhaut aus geradezu riesige Mengen davon, ohne erheblich zu erkranken (D ö r r, K r u s e und B ü r g e r s). Woran das liegt, sind wir gerade dabei, zu ermitteln. E s e l und P f e r d e sind, wie oben bemerkt, auch recht empfänglich für die giftigen Wirkungen der Ruhrbazillen, es wäre aber noch festzustellen, ob sie durch dasselbe Gift beeinflußt werden wie die Kaninchen. Schafe und Ziegen sind weit unempfindlicher.

M ä u s e sollen nach K o l l e, H e l l e r und d e M e s t r a l für Versuche mit dem „Kaninchengift“ besonders brauchbar sein, wir haben aber das Gegenteil gesehen. M e e r s c h w e i n c h e n sind dagegen nach übereinstimmender Angabe fast aller Forscher dafür so gut wie unempfindlich, wie schon daraus folgt, daß unser Ruhrbazillenextrakt im gekochten Zustand für sie nicht viel weniger — etwa halb so — giftig ist als in ungekochtem. Außerdem bedarf man, um Meerschweinchen zu töten, erheblich größerer Mengen als bei Kaninchen; durchschnittlich genügt der Extrakt von 1 bis höchstens 2 Agarkulturen, um den Tod eines 200—250 g schweren Tieres in weniger als 24 Stunden herbeizuführen. Die Erscheinungen entsprechen genau den bekannten der Endotoxinvergiftung (siehe Cholera und Typhus). Es gibt aber echte Ruhrkulturen, die für das Meerschweinchen noch weit ungiftiger sind. Das sind bezeichnenderweise solche, die ihre V i r u l e n z für d i e s e Tiere fast völlig eingebüßt haben, während sie umgekehrt für Kaninchen besonders giftig zu sein scheinen. Wieder ein Beweis der völligen Verschiedenheit des Meerschweinchen- und Kaninchengiftes.

1) Annal. Pasteur 1905.

Daraus folgt, daß in den Ruhrbazillen mindestens zwei Endotoxine zu unterscheiden sind: das in seinen Wirkungen durchaus eigentümliche hitzeempfindliche „Kaninchengift“ und ein gewöhnliches hitzebeständiges Endotoxin. Die nähere Prüfung hat uns aber gezeigt (vgl. bei Selter), daß dieses letztere „Meerschweinchengift“ vielleicht doch nicht ein einheitlicher Körper ist, sondern wieder in zwei Formen auftritt, die sich mindestens durch ihr Verhalten zu unserem mit abgetöteten Kulturen vom Esel gewonnenen Immunserum und ihre ungleiche Löslichkeit, vielleicht aber auch durch ihre physiologischen Wirkungen unterscheiden. Behandelt man nämlich Meerschweinchen mit unserem Extraktgift, so pflegen sie nur an großen Gaben in einem, spätestens einigen Tagen zu sterben, erholen sich aber nach kleinen Gaben ziemlich schnell. Verimpft man dagegen die einmal ausgezogenen Bazillenleiber (oder die daraus neu gewonnenen Extrakte), so sterben die Tiere zwar an großen Gaben unter ähnlichen Erscheinungen, erliegen aber auch sehr viel kleineren — ebenso wie an nicht akut tödlichen Mengen lebender Bazillen — noch nach Tagen und Wochen unter starker Abmagerung. Gegen die Vergiftungen ebenso wie gegen die Wirkungen der durch wiederholtes Ausziehen der Leiber bei 60—100° erhaltenen zweiten Extrakte schützt unser Immunserum in gewissem Grade, während das erste Extraktgift durch dasselbe nicht beeinflusst wird.

Auch Hunde und andere Fleischfresser werden durch Ruhrbazillen vergiftet, und zwar sterben sie, wie ich mit Selter festgestellt, besonders nach intravenöser Darreichung unter dem bekannten Bilde der putriden Intoxikation oder der Sepsisvergiftung (S. 914), d. h. nach schnell einsetzenden und vorübergehenden nervösen Erscheinungen (Zittern, Brechen, Kraftlosigkeit) mit blutiger Darmentzündung, die sich hauptsächlich in den oberen und unteren Darmabschnitten, oft aber auch in der ganzen Länge oder nur im unteren Teil bemerkbar macht. Andere Forscher, vor allem Vaillard und Dopter, sowie Dörr glaubten darin die spezifischen Wirkungen des Kaninchengiftes erkennen zu sollen, aber wir erhielten die gleichen Veränderungen, wenn auch erst mit größeren Gaben gekochter Bazillen, sowie mit vielen anderen Bakterien. Eine Verwandtschaft unseres Hundegiftes zum Ruhrimmunserum haben wir mit Sicherheit nicht feststellen können.

Die Pseudodysenteriebazillen sind nur ausnahmsweise für Kaninchen so giftig wie die Ruhrbazillen, immerhin haben wir selber einige Fälle beobachtet, wo die charakteristischen Erscheinungen am Darm auftraten, und vielleicht ist Vaillard und Dop-

ter dasselbe begegnet. Im allgemeinen bedarf man aber viel größerer Mengen, um Kaninchen zu töten, und es fehlen die bekannten Erscheinungen. Der regelmäßige Mangel des „Kaninchengiftes“ bei den Pseudodysenteriebazillen entspricht auch der von uns und anderen gemachten Erfahrung, daß man diese Tiere leicht gegen sie immunisieren kann. Gegenüber Meerschweinchen, Hunden und anscheinend auch Pferden verhalten sie sich ähnlich wie echte Dysenteriebazillen.

Es fragt sich, welche von den verschiedenen Giften der Ruhrbazillen für die Ruhr der Menschen¹⁾ in Betracht kommen. Aus dem Umstande, daß die Pseudodysenteriebazillen, die des Kaninchengifts ermangeln, beim Menschen im wesentlichen die gleichen Veränderungen setzen wie die Dysenteriebazillen, kann man schon den Schluß ziehen, daß das letztere Gift hier ebenso bedeutungslos ist wie für Meerschweinchen; auch die für die Kaninchen so wichtigen Lähmungen kommen bei der Ruhr ja nur außerordentlich selten vor, wohl nicht häufiger wie bei allen möglichen anderen Infektionen. Umgekehrt gleichen die Schwächezustände, die starke Abmagerung der Ruhrkranken den Krankheiterscheinungen bei den Meerschweinchen, die auch in der Beziehung dem Menschen näher stehen als die Kaninchen, daß sie der Infektion mit Ruhrbazillen viel zugänglicher sind. Bisher ist es freilich noch bei keinem Tier gelungen, die örtliche Infektion im Darm wiederzuerzeugen. Da diese aber gerade das wesentlichste Merkmal der menschlichen Erkrankung darstellt und die örtlichen Veränderungen in der Darmwand ausreichend erklärt, ist es ganz überflüssig, für die letzten wieder das Darmgift des Kaninchens verantwortlich zu machen und auch beim Menschen die Darmveränderung auf dem Umwege über die Blutbahn zustande kommen zu lassen.

§ 290. Die Gifte der hämorrhagischen Septizämien. Am längsten bekannt ist die Giftigkeit der Bazillen der hämorrhagischen Septizämie²⁾, die auch als *Pasteurella*-gruppe zusammengefaßt werden. Schon Pasteur³⁾ erzielte durch Einspritzen größerer Mengen von durch Porzellan filtrierte Bouillonkulturen des Hühnercholeraabakteriums zwar nicht den Tod, aber deutliche Erkrankung der Hühner. Voges⁴⁾ stellte aber erst genauer die Bedingungen für die Giftigkeit der Kulturen dieser und der verwandten Bazillen fest. Er fand zunächst für filtrierte Bouillonkulturen der Kaninchenseptizämie, daß sie Meerschweinchen vom Bauch-

1) Über einige Versuche mit Ruhrgift am Menschen vgl. Pfeiffer und Ungermann, Zentr. Bakt. 50, 1909.

2) Über ein Ptomain der Schweineseuchebakterien vgl. S. 819.

3) Compt. rend. ac. sc. 90, 1880.

4) Zeitschr. f. Hyg. 23, 1896.

ll in Gaben von 2—3 ccm nicht töten, so lange sie nicht älter sind als 1—6 Wochen, nach einem Wachstum von 9 Wochen aber doch tödlich werden. Ganze, d. h. unfiltrierte Bouillonkulturen, die durch Chloroform oder Trikresol abgetötet worden, riefen schon, wenn sie nicht sehr alt waren, und in kleineren Mengen den Tod hervor. Die Ursache dafür liegt wohl zum Teil darin, daß das Gift ursprünglich in den Bakterienleibern sitzt und daraus erst allmählich in Lösung übergeführt wird¹⁾.

Für ganz junge durch Chloroform abgetötete Bakterienrasen von Karkulturen der einzelnen Bakterienvarietäten stellte V o g e s folgende Stufenleiter der Giftigkeit auf. Es wurden Meerschweinchen von 200 bis 300 g vom Bauchfell aus getötet durch:

8—10 mg	des Bazillus der deutschen Schweineseuche (<i>B. suis</i> septicus)
12 „ „ „	der amerikanischen „ „
16 „ „ „	der Hühnercholera
20 „ „ „	Kaninchenseptizämie
40 „ „ „	der Wildseuche.

Man sieht aus diesen erheblichen Unterschieden, daß es nicht etwa die ganze Masse der Bakterienleiber ist, die giftig wirkt, sondern daß das Gift nur einen (wahrscheinlich kleinen) Bestandteil des Bakterienleibes ausmacht. Es werden auch hier wie bei anderen Bakterien bei einer und derselben Abart je nach der Rasse Schwankungen der Giftigkeit vorkommen (vgl. Cholera, Fleischgift usw.). Das schließt aber nicht aus, daß die Giftigkeit eine unter Umständen ziemlich beständige Eigenschaft darstellt; so fand sie V o g e s völlig gleich bei seinen Kulturen der deutschen Schweineseuche, ob er sie nun in stark abgeschwächtem oder hochinfektiösem Zustand verwandte. Das Verfahren, durch welches die Abtötung der Bakterien bewirkt wurde, war nicht gleichgültig für ihre Giftigkeit. Am wirksamsten waren die Leiber, wenn sie durch Erhitzung auf 55—60°, oder Chloroform oder Karbolsäure abgetötet waren, die übrigen chemischen und physikalischen Mittel (Trikesol, Toluol, Abkochen) waren bald mehr bald weniger geeignet zur Konservierung des Giftes; der Alkohol absolutus erwies sich am schädlichsten. Bemerkenswert ist auch für diese Endotoxine, daß die Siedehitze, besonders wenn sie nur 10 Minuten einwirkte, die Giftigkeit der Bazillen verhältnismäßig wenig oder überhaupt nicht beeinträchtigte²⁾.

Es gelang V o g e s nicht, Versuchstiere gegen das Gift der hämorrhagischen Septizämie zu immunisieren. Die länger behandelten Tiere

1) Doch zeigt ein Vergleich der Giftmengen, die in den frischen Bakterienleibern und in Filtraten älterer Bouillonkulturen enthalten sind, daß die ersteren kleiner sind. Es scheinen also die Gifte wenigstens zum Teil, wie bei der Diphtherie und der Bubonenpest (s. u.), erst in späteren Entwicklungsstadien der Kultur zu entstehen. Weitere Untersuchungen darüber wären erwünscht.

2) Über die ungleiche Wirksamkeit des Giftes von verschiedenen Körperstellen aus vgl. S. 862.

wurden sogar weniger widerstandsfähig. Macfadyen¹⁾ hat durch Verreibung der Schweineseuchebazillen bei der Temperatur der flüssigen Luft, Behandeln mit 1^o/₁₀₀ Kalilauge und Zentrifugieren eine Lösung erhalten, die in Mengen von 0,1—0,5 ccm (1,5 mg Trockensubstanz) Meerschweinchen akut tötete und auch für Mäuse und Kaninchen giftig war. Später zeigten sich gelegentlich der Aggressin- und Immunisierungsversuche mit Schweineseuche und Hühnercholera auch die serösen und namentlich die wässerigen Extrakte dieser Bakterien giftig (Citron und Pütz § 319).

§ 291. Pestgifte. Der hämorrhagischen Septizämie reiht sich die Bubonenpest an. Doch sind die Verhältnisse der Giftbildung bei der Pest, soweit man bisher sehen kann, verwickelter. Besonders Markl²⁾ und Kolle³⁾ haben sich um ihr Studium verdient gemacht. Zunächst stimmen alle Untersucher⁴⁾ darin überein, daß frische Pestkulturen ziemlich wenig giftig sind. Am ehesten läßt sich hier noch die Giftigkeit der Bazillenleiber nachweisen. Doch werden Meerschweinchen und andere Tiere bei intraperitonealer und Kaninchen bei intravenöser Einspritzung erst durch etwas größere Mengen der Bazillenleiber akut getötet, als wir bei Cholera. Typhus usw. angegeben haben.

So töteten nach Albrecht und Ghon selbst $\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{3}$ des 3 Stunden bei 55° und danach 1 Stunde bei 60° sterilisierten Bakterienrasens einer Petrischale Meerschweinchen von 250 g erst binnen einem Monat. Affen (Macacus) vertrugen nach der deutschen Kommission 55 mg getrockneter Pestbazillen, die entweder durch zweistündiges Erhitzen auf 51° oder einstündiges Erhitzen auf 65° oder 20stündige Einwirkung von 0,5% Phenol oder 30stündige Behandlung mit Chloroform abgetötet waren, d. h. 250 bis 300 mg der feuchten Bazillensubstanz bei intraperitonealer Einspritzung ohne irgendwie erhebliche Vergiftungssymptome. Mäuse blieben nach Markl ebenfalls gesund, wenn ihnen etwa 1 mg der erhitzten Bazillenleiber intraperitoneal einverleibt wurde, starben allerdings schon an 0,1 mg der durch Chloroform sterilisierten Pestbazillen binnen 24 Stunden. Graue Ratten sind nach Kolle besser zur Prüfung der Giftwirkung geeignet, weil sie gleichmäßiger reagieren als Mäuse und empfindlicher sind als die übrigen Tiere. Eine Angabe über die tödliche Dosis macht er aber nicht. Nach Lustig und Galeotti soll das „Nukleoproteid“, das man aus den Pestbazillen durch Ausziehen mit 0,75prozentiger Kalilösung und Fällen mit Essig- oder Salzsäure gewinnen kann, Ratten, Mäuse und

1) Zentr. Bakt. 43, 143, 1907.

2) Zentr. Bakt. 24, 1898 und Zeitschr. f. Hyg. 37.

3) Festschrift für Koch 1903.

4) Yersin, Calmette und Borrel, Annal. Pasteur 1895; Lustig und Galeotti, Deutsch. med. Woch. 1897. 15 und 19; Wernicke, ref. Zentr. Bakt. 24. 859, 1898; Bericht der Deutschen Pestkommission (Arb. d. Gesundheitsamts 16. 300, 1899); der Österreichischen Pestkommission (Albrecht und Ghon, Denkschr. klin. Akad. Wiss. math.-naturw. Kl. Bd. 66, Teil III, S. 780, 1900).

Kaninchen in Mengen von 1—8 mg der Trockensubstanz auf je 100 Körpergewicht töten. Doch bestimmt Markl nach derselben Methode die tödliche Minimaldosis für Mäuse auf 3,5 mg der trockenen Präparate. Der größte Teil des Giftes geht also bei dieser Art der Darstellung verloren. Wernicke hat dagegen mit Glück versucht, das Gift aus den Bazillenleibern durch Glycerin auszuziehen. Es gelang ihm, Mäuse mit 0,5 mg seines Präparats zu töten. Besredka¹⁾ konnte ebenso wie aus den Typhusbazillen (S. 938) das Gift aus den getrockneten Pestbazillen durch Behandlung mit normalem Pferdeserum oder Verreiben mit Kochsalz und Ausziehen mit Wasser gewinnen. Es soll im Gegensatz zu dem Typhusgift Erhitzen auf 70° nicht vertragen.

Frische Bouillonkulturen sind nach Kolle für Ratten in Gaben von 0,5—1 ccm tödlich, wenn sie im ganzen durch $\frac{1}{4}$ prozentige Karbolsäure oder Übersichtung mit Toluol sterilisiert sind. Ihre Filtrate sind 5—10mal weniger wirksam. Die Vergiftung tritt immer erst nach einer Inkubationszeit von 6—8 Stunden zutage unter dem bekannten Bilde des Kollapses ohne Krämpfe. Kolle schließt, daß das eigentliche Pestgift in den Leibern sitze und nur allmählich aus ihnen ausgelaugt werde. Er setzt sich dadurch in Widerspruch zu Markl, der das Pestgift für ein Sekretionsprodukt der Bakterien ansieht. Sehr viel kräftigere Gifte erhält man nämlich, wenn man ältere Bouillonkulturen filtriert.

Doch sind dabei verschiedene Vorsichtsmaßregeln zu beobachten. Zunächst ist es nicht gleichgültig, welchen Pestbazillienstamm man benutzt, vielleicht ein Beweis dafür, daß die Pestbazillen, wie Cholera- und Typhusbazillen usw. gewisse Gifte nur gelegentlich erzeugen, diese daher auch wohl für die natürliche Infektion nur geringe Bedeutung haben. Bei längerer Fortzucht auf künstlichen Nährböden, insbesondere bei Bruttemperatur, kann die Giftigkeit der Bazillen größtenteils verloren gehen, ohne daß ihre Infektiosität, d. h. ihre Wirksamkeit im lebenden Zustand, dabei wesentlich litte. Werden dergleichen Stämme aber wiederholt durch Tiere hindurchgeschickt, so können sie wieder giftig werden. Hat man giftige Bazillen zur Verfügung, so muß man dafür Sorge tragen, daß sie bei Zimmertemperatur (20°) und reichlichem Sauerstoffzutritt wachsen, da Bruttemperatur und vor allem beschränkte Luftzufuhr die Bildung des Giftes hintanhalt. Die Reaktion des Nährbodens hat viel weniger Einfluß; nützlich erweist sich ein Zusatz von Serum zur Bouillon; am giftigsten sind die Filtrate nach 1—2 Monaten. Sie töten Mäuse intraperitoneal schon in Mengen von 0,005—0,02 ccm binnen 24 Stunden, Ratten in der 10mal größeren Gabe. Kaninchen erliegen manchmal schon nach intravenöser Einspritzung von $\frac{1}{2}$ —1 ccm, Meerschweinchen erst nach solcher von 10 ccm (intraperitoneal) in demselben Zeitraum, doch genügen bei Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen schon kleinere Giftgaben, um schleichendes Siechtum und Tod zu bewirken. Die Krankheitserscheinungen bestehen bei der akuten Vergiftung in Tem-

1) Annal. Pasteur 1905. 7 und 1906. 4.

peraturabfall und oft lange dauernden Krämpfen, die ohne Inkubationszeit auftreten, bei der chronischen in Abmagerung, Haarausfall und schließlich ebenfalls in Krämpfen. In den Organen finden sich, namentlich bei Ratten, Hämorrhagien und Gewebstekrosen neben Atrophie und Verfettung. Nach Markl wirkt die viertelstündige Erhitzung der Filtrate auf 70° auf deren Giftigkeit in verschiedener Weise. Mäuse sterben danach überhaupt nicht mehr, die übrigen Versuchstiere später als sonst. Selbst sehr viel größere Dosen verursachen dann keine akute Vergiftung mehr. Aber auch schon niedrige Temperaturen (25—37°) schädigen das Gift auf die Dauer. Es liegt nahe, aus dieser Tatsache auf die Bildung zweier verschiedener Bouillongifte oder aber auf die Umwandlung eines primären in ein sekundäres zu schließen, welches letztere für Mäuse unschädlich zu sein scheint. Vielleicht hat aber Kolle recht, wenn er das starke Gift, das aus älteren Bouillonkulturen gewonnen wird, überhaupt nicht für ein ursprüngliches Gift der Pestbazillen, sondern für ein nachträgliches Zerfallsprodukt hält. Versuche mit Autolyse von Pestbazillen würden die Frage möglicherweise entscheiden.

Die Darstellung des Giftes der Filtrate ist bisher nur unvollkommen gelungen. Nach Markl erhält man durch Fällung mit Alkohol ein stark verunreinigtes Gift, das in einer Dosis von 18 mg Mäuse in 24 Stunden tötet. Ammoniumsulfat soll das Gift überhaupt nicht fällen, Zinkchlorid einen unlöslichen Niederschlag geben. Wernicke hat allerdings aus 8—12 Wochen alten Kulturen, die mit 0,25% Formalin oder Toluol abgetötet waren, durch Ammonsulfat ein trockenes Gift gewonnen, das Mäuse in Bruchteilen eines Milligramms tötete, während das Kulturfiltrat zu 0,1 ccm giftig war.

Aus den bazillenreichen Organen von Pesttieren erhielt Markl durch Ausziehen mit Glyzerin und Filtrieren durch Porzellan einen Auszug, der Mäuse freilich erst in großen Gaben (von 0,5 ccm) vergiftete (Glyzerinwirkung?). Der wässrige Auszug war unwirksam. Daß in solchen Pesttieren ein Gift vorhanden ist, folgert Wernicke aus der Tatsache, daß ein Pleuraexsudat von einem pestinfizierten Meerschweinchen in der Menge von 1 ccm Mäuse unter lange andauernden Krämpfen tötete.

Durch Behandlung mit dem Pestgift kann man, wie alle Forscher versichern, Versuchstiere gegen dasselbe immunisieren, und zwar am besten mit dem hitzeempfindlichen Gift. Mäuse vertragen dann z. B. mehr als die 1000fache Giftmenge. Das Blutserum der immunisierten Tiere besitzt auch eine gewisse Schutzkraft gegen das Gift und zwar gegen das Leibesgift (Besredka) ebenso wie gegen das Sekretgift (Wernicke), doch ist dieser Schutz nicht bedeutend und wird von Kolle sogar vollständig geleugnet oder vielmehr dem Pferdeserum als solchem zugeschrieben. Ob die Wirkung des Serums beim pestkranken Menschen darauf beruht, ist zweifelhaft.

§ 292. Milzbrandgift. Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Bakterien ist über die Giftbildung beim Milzbrandbazillus bisher nichts Sicheres bekannt, obwohl es an Bemühungen wahrlich nicht gefehlt hat, eine solche auch bei diesen viel studierten und am längsten bekannten Bakterien nachzuweisen.

Vor einigen Jahren hat sich C o n r a d i ¹⁾ der Aufgabe unterzogen, die Frage an der Hand der neuesten Untersuchungsmethoden noch einmal zu bearbeiten. Die Ergebnisse dieser Abhandlung sind folgende: Wenn der Milzbrandbazillus Gifte bildet, so liegt es am nächsten, anzunehmen, daß sie in den Säften des infizierten Tieres gelöst vorhanden seien. C o n r a d i gewann solches Material, indem er Meerschweinchen ins Bauchfell impfte und das reichliche Exsudat, das sich bis zum Tode des Tieres im Bauchraum gebildet hatte, mit allen Vorsichtsmaßregeln sammelte und dann durch Kieselgur oder Porzellanfilter von den Bakterien und anderen körperlichen Bestandteilen möglichst schnell befreite. Mäuse, die 2—4 ccm, Ratten, die 5—12 ccm der Filtrate unter die Haut gespritzt bekamen, zeigten bis zu 2 Monaten nachher keine Krankheitserscheinungen, ebenso wenig Meerschweinchen, die 4—15, Kaninchen, die 10—20, Hunde, die 25 ccm der Filtrate in den Bauchraum, in die Venen oder unter die Haut gespritzt erhielten. Insbesondere die Versuche an Mäusen erscheinen ziemlich beweiskräftig, weil die Exsudatmengen, die ihnen einverleibt wurden, den neunten bis fünften Teil ihres Körpergewichts darstellten. In den Säften der Milzbrandtiere ließen sich also mit Hilfe der Filtration, die freilich möglicherweise das Gift zurückgehalten hat (s. u.), keine Giftstoffe nachweisen. Ebenso wenig gelang das in den Auszügen der Leber und Milz, die in der Weise hergestellt wurden, daß die Organe unmittelbar nach dem Tode der Tiere mit Sand und etwas Kochsalzlösung sorgfältig verrieben und dann durch Chamberlandfilter unter dem Druck von 4 Atmosphären filtriert wurden. Die Tiere, die in derselben Weise, wie oben, mit diesen Filtraten behandelt wurden, blieben gesund. Natürlich wurde darauf geachtet, daß die Filtration eine vollständige war, und nicht etwa der zuerst durch das Filter gehende Teil des Saftes zur Einspritzung benutzt. Es blieb nun noch der Einwand übrig, daß durch die Filter der größte Teil der wirksamen Stoffe zurückgehalten worden sei. E. L e v y, in dessen Laboratorium die C o n r a d i -schen Versuche vorgenommen worden waren, hat diesen Einwand selbst in Gemeinschaft mit B e c k m a n n ²⁾ dadurch erledigt, daß er das Blut von Kaninchen, die im Begriff waren, an Milzbrand zu sterben, gerinnen ließ und das durch Zentrifugieren gereinigte Serum in größeren Gaben (bis zu 43 ccm) anderen Kaninchen einspritzte. Wie bei der Schweinepest (S. 943) blieb jeder Erfolg aus. Demgegenüber will es kaum etwas besagen, wenn S a u e r b e c k ³⁾ nach Einspritzung von großen Mengen filtrierter Milzbrandexsudate Meerschweinchen zum Teil in ein chronisches Siechtum versetzte. Man kann damit wenig anfangen, zumal da es sich ja für die Versuchstiere um körperfremde Stoffe handelte, die ihnen kaum gleichgültig sein konnten.

Durch diese Versuche sind wohl die vereinzelten Erfolge früherer Forscher, die mit Filtraten von künstlichen Milzbrandkulturen oder Organextrakten gewonnen waren, hinfällig geworden. Es lohnt sich daher nicht, näher auf die durch verschiedene chemische Verfahren erhaltenen Gift-

1) Zeitschr. f. Hyg. 31, 1899 mit Literatur; vgl. auch S o b e r n - h e i m im Handb. path. Mikr. v. K o l l e - W a s s e r m a n n 1, 1903.

2) Zentr. Bakt. 43, 1907.

3) Zeitschr. f. Hyg. 56, 25, 1907.

präparate (Toxalbumine, Ptomaine usw.) einzugehen. Zum Überfluß hat sich C o n r a d i die vergebliche Mühe gemacht, aus der zerriebenen Milz und Leber von Milzbrandtieren nach dem Vorgang von B r i e g e r und F r ä n k e l (S. 824) Gifte zu gewinnen. Auch wenn er die Organe nicht vorher filtrierte, sondern nach dem Verfahren von M a r m i e r erst mit 42% Alkohol von der Hauptmenge der Eiweißstoffe befreite und die übrig bleibende Lösung mit Alkohol absolutus fällte, erhielt er keine Präparate, die in dem Verhältnis von 0,2—2,2% zum Körpergewicht giftig gewesen wären. Noch weniger war von der Wiederholung des von M e t s c h n i k o f f und R o u x (vgl. S. 926) vorgeschlagenen Versuchs, die Bildung von löslichen Giften durch Kultur der Bakterien in Kollodium- oder Schilfsäckchen, die in den Bauchraum der Tiere eingebracht wurden, nachzuweisen. Die Giftmenge, die durch diese Membran hindurch diffundieren könnte, würde ja gerade bei einer Krankheit, die wie der Milzbrand meist erst bei massenhaftem Wachstum der Erreger im Körper tötet (vgl. übrigens Schweinepest S. 943), nicht ausreichend sein, um erhebliche Krankheitserscheinungen zu veranlassen. C o n r a d i hatte demnach auch mit einer großen Zahl von derartigen Experimenten an Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden keine Erfolge.

Es mußte noch die Möglichkeit ins Auge gefaßt werden, daß die Milzbrandbazillen in ihrem Leibe selbst giftige Stoffe enthalten. Allerdings hatten schon frühere Forscher gefunden, daß Milzbrandbazillen, die durch Hitze sterilisiert sind, selbst in großen Mengen wirkungslos bleiben. So konnte der Verfasser in Gemeinschaft mit B o n a d u c e ¹⁾ Meerschweinchen 3—5 ganze A g a r k u l t u r e n (300—500 mg), die durch Kochen oder sechstündiges Erhitzen bei 58—60° abgetötet waren, ohne Schaden in die Bauchhöhle einbringen. C o n r a d i benutzte zur Sterilisierung statt der Wärme 1prozentiges Formalin oder Toluol oder Temperaturen von 16° unter Null, die er 110 Stunden einwirken ließ. Weder die bazillenhaltigen Milzbrandexsudate noch Bazillenaufschwemmungen aus asporogenen Kulturen waren so behandelt in den größten Mengen (0,3—15,8% des Körpergewichts) giftig. Zum Schluß prüfte C o n r a d i noch die P r e ß s a f t m e t h o d e E. B u c h n e r s. Milzbrandorgane wurden verrieben, unter 500 Atmosphären Druck ausgepreßt und durch Porzellan filtriert. Auch sie zeigten keine Spur von Giftigkeit.

Spätere Versuche haben allerdings gezeigt, daß sich durch stärker eingreifende Verfahren aus Milzbrandbazillen ein Gift gewinnen läßt, das in sehr großen Gaben tödlich wirkt. So fanden E. L e v y und P f e r s d o r f f ²⁾ asporogene Milzbrandrasen, die sie mit der gleichen Menge destillierten Wassers aufschwemmten und mit Toluol versetzt 4 Wochen unter wiederholtem Umschütteln bei 37° stehen ließen, in Gaben von $\frac{1}{11}$ des Körpergewichts (auf die feuchte Masse berechnet) für Mäuse tödlich. Man wird denn doch zugeben müssen, daß hiermit für die natürlichen Verhältnisse nichts bewiesen ist. Erstens ist die Masse der Bazillen, die den Versuchstieren einverleibt wird, etwa gleich der ihres gesamten Blutes. In Wirklichkeit tötet aber eine viel geringere Masse der Bazillen, selbst wenn man bedenkt, daß manche Gefäßbezirke der Milzbrandtiere buchstäblich mit Bazillen vollgestopft sind. Zweitens bilden sich durch die

1) Ziegler's Beitr. path. Anat. 12. 369, 1893.

2) Deutsch. med. Woch. 1902.

elbstverdauung der Bazillen nach Levy und Pfersdorff als den Bazillenleibern alle möglichen Stoffe neu, die sehr wohl giftig wirken könnten, z. B. aromatische Produkte (vgl. S. 808). Ähnliche Einände lassen sich erheben gegen das Verfahren von Vaughan¹⁾, das bei der Behandlung der Bazillen mit schwefelsaurem Alkohol bestand. Nicht ganz so gewaltig ist die tödliche Gabe nach einigen eigenen nicht veröffentlichten Versuchen, wenn man die von Agarkulturen gesammelten (sporenhaltigen) Milzbrandrasen mit destilliertem Wasser 3 Stunden lang bei 120° auskocht (vgl. S. 916 Anm. 1). Ein weiterer Versuch ist von Loidin²⁾ mit Hilfe von Chloroform- oder Ätherauszügen gemacht worden. Er will dabei außer örtlichen Wirkungen den Tod von Kaninchen 11–28 Tagen erhalten haben, aber nur, wenn er den Extrakt in Öl auflöst ins Blut spritzte. Die Unbeständigkeit des Ausfalls seiner Versuche erweckt, von allem anderen abgesehen, erheblichen Zweifel. Deycke und Much³⁾ haben schließlich aus Milzbrandbazillen, die sie nach Trocknung und Entfettung mit Äthylamin auszogen, durch Fällung mit Essigsäure ein giftiges Eiweiß gewonnen. Es ist aber sehr zweifelhaft, ob nicht, wie in den obigen Versuchen, die tödliche Gabe zu groß ist, um die natürliche Vergiftung erklären zu können. Wenn man bedenkt, wie große Gaben in den Versuchen von Levy, Pfersdorff und uns erst tödlich wirken, begreift man nicht, wie Simoncini⁴⁾ schon mit 9 mg der bei 100° sterilisierten Bazillenleiber Erfolge haben konnte.

Man darf aus diesen vielen vergeblichen Versuchen wohl nicht den Schluß ziehen, daß die Milzbrandbazillen überhaupt kein Gift bilden. Wir brauchen ein solches notwendig, um die Krankheitserscheinungen und den Tod bei Milzbrand zu erklären, namentlich auch in solchen Fällen, wo die Infektion im wesentlichen örtlich begrenzt bleibt. Es bleibt also nichts übrig, als bessere Methoden des Giftnachweises zu schaffen. Wie das geschehen kann, ist freilich schwer anzugeben⁵⁾. Die Giftwirkungen der Milzbrandbazillen scheinen nicht besonders charakteristischer Art zu sein, abgesehen vielleicht von dem Einfluß auf das Blut und die Blutgefäße. Hämorrhagien, aber auch Hämolyse werden nicht selten beobachtet (§ 315).

§ 293. **Rotlaufgift.** Wie verhalten sich nun die Gifte anderer Septizämieerreger? Bei einigen liegen die Dinge ähnlich wie beim Milzbrand. Dahin gehört in erster Linie der Rotlauf der Schweine und die nahe verwandte, wenn nicht mit ihr zusammenfallende Mäuse-septizämie. Nach Petri und Maassen⁶⁾, Voges⁷⁾ u. a. kann

1) Ref. Zentr. Bakt. 34.

2) Arch. méd. experim. 1905. 706.

3) Mediz. Klin. 1908. 40.

4) Annal. d'igine sperim. 1906.

5) Vielleicht wäre der Weg, der bei den Streptokokken zum Ziel geführt hat, zu erproben (s. u. S. 926).

6) Arbeit. k. Gesundheitsamt 8. 394.

7) Zeitschr. f. Hyg. 22. 533, 1896.

man Tieren riesige Mengen abgetöteter oder filtrierter Kulturen oder Krankheitsprodukte, z. B. Mäusen bis zu 5 ccm und kleinen Kaninchen bis zu 200 ccm Bouillonkultur ungestraft einspritzen.

Erst die Bazillenleiber, die durch Zentrifugierung von 300 ccm Bouillonkultur gewonnen waren, töteten nach *Voges* Mäuse. *Petri* und *Maassen* erhielten aber auch dabei keine Erfolge, gleichgültig, in welcher Weise sie die Bazillen sterilisierten. Wässrige und alkoholische Auszüge von Rotlauforganen veranlassen nach *Donath*¹⁾ bei Kaninchen Fieber und gelegentlich den Tod, während *Petri* und *Maassen* auch hier wieder keinen Erfolg hatten, ob sie nun frische Organe mit Glyzerin auszogen oder den Alkoholniederschlag der Organsäfte trockneten und mit Wasser, Kochsalz- oder Sodalösung auszogen. Die Verfasser sind nach allen diesen fehlgeschlagenen Versuchen geneigt, die Giftigkeit der Rotlaufbazillen auf einen anderen Stoff zurückzuführen, den sie regelmäßig in Kulturen und sehr häufig in Rotlauftieren nachweisen konnten, nämlich den Schwefelwasserstoff (S. 806). Ehe man sich dazu verstehen kann, wird man stärkere Beweise abwarten müssen. Bekanntlich sind Rotlaufbazillen nicht die einzigen Bakterien, die dieses Gas bilden. Im Darm entsteht es sehr häufig, kann auch von dort in das Innere der Organe übergehen. Vergiftungen sind aber nur größte Ausnahmen.

Es bleibt also vorläufig nichts anderes übrig, als beim Schweine-rotlauf wie beim Milzbrand festzustellen, daß die Bemühungen, ein Gift aufzufinden, bisher vergeblich gewesen sind²⁾.

§ 294. Pneumoniegift. Etwas günstiger liegen die Dinge bei den *Pneumoniekokken* (*Streptoc. lanceolatus*). Es will allerdings nicht viel sagen, daß man mit sterilisierten Kulturen oder daraus gewonnenen Präparaten Entzündung und Fieber bewirken oder durch wiederholte große Gaben solcher Kulturen Marasmus hervorrufen kann, wie es vielen Autoren gelungen ist, man muß das Gift, das oft in akutester Weise zu töten vermag, in die Hand zu bekommen suchen. Das ist nicht leicht, solange man mit künstlichen Kulturen der *Pneumokokken* arbeitet.

Bouillonkulturen sind sehr wenig giftig, ob man junge oder alte Kulturen benutzt und sie durch Filtration oder durch vorsichtiges Erhitzen (58—60°) oder durch Behandeln mit Chloroform, Phenol usw. von lebenden Keimen befreit, oder das natürliche Absterben der Bakterien in den Kulturen abwartet. Darin stimmen alle Beobachter³⁾ überein: es bedarf riesiger Mengen, um den Tod der für die Septizämie empfänglichen Tiere herbeizuführen. So bewirkten nach G. und F. *Klemperer* 30 ccm Filtrat bei kleinen Kaninchen! nur Tage lang andauerndes Fieber und erst 50 ccm den Tod. Nach *Issaëff* töten die frischen Bouillonfiltrate

1) Zentr. Bakt. 15. 900, 1894.

2) S. aber die Erfolge bei Streptokokken S. 926.

3) *Kruse* und *Pansini*, Zeitschr. f. Hyg. 11. 344, 1891; *Klemperer*, Berl. klin. Woch. 1891. 35; *Issaëff*, Annal. Pasteur 1893; *Mennes*, Zeitschr. f. Hxg. 25, 1897; *Pane*, Zentr. Bakt. 21. 666, 1897.

selbst bei intravenöser Injektion noch nicht in Gaben, die 3,5% des Körpergewichts betragen, ältere sind noch weniger wirksam. *P a n e* gibt allerdings für alte freiwillig abgestorbene Kulturen die tödliche Dosis auf 2% des Körpergewichts an, aber 4% *u n b e i m p f t e r* Bouillon sollen nach ihm schon tödlich wirken; wir können also bei solchen Mengen schon nicht mehr sicher sagen, wieviel der giftigen Wirkung den Bakterien zuzuschreiben ist. Erhitzen über 60° setzt die Giftigkeit noch weiter herab. Nur wenig gesteigert wird sie, wenn man der Nährbouillon Blutserum zusetzt oder die Kokken in reinem Blutserum züchtet. So erwiesen sich nach *K r u s e* und *P a n s i n i* 40 ccm einer bei 60° sterilisierten Kultur in Aszitesflüssigkeit für Kaninchen unschädlich. Auch die Versuche, durch Einengung größerer Kulturmengen das Gift zu gewinnen, führten uns nicht zum Ziel. 150 ccm einer dreitägigen Bouillonkultur virulenter Diplokokken wurden bei 37° unter der Luftpumpe auf den zehnten Teil eingedickt und dann einem Kaninchen von 700 g unter die Haut gespritzt. An der Impfstelle bildete sich nur ein kleines Eiterknötchen, das aufbrach und sich steril erwies; sonst blieb das Tier gesund. Die Kultur war bemerkenswerterweise weder filtriert noch über 37° erhitzt worden, enthielt also auch die *B a k t e r i e n l e i b e r*, deren Masse freilich in den Pneumokokkenskulturen viel unbedeutender ist, als in den meisten übrigen Bakterienkulturen. Immerhin wird man sie in diesem Versuch auf 20—30 mg schätzen können. *I s s a e f f* hatte bei der Einengung seiner Kultur ähnliche Ergebnisse. Etwas giftiger erscheint das „Pneumotoxin“, das die Gebrüder *K l e m p e r e r* durch Fällung einer zweitägigen Bouillonkultur mit Alkohol erhielten. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst und zur einen Hälfte einem Kaninchen von 765 g, zur anderen einem solchen von 1300 g eingespritzt: nur das erste starb mit Durchfällen in 22 Stunden, es hatte aber auch den *A l k o h o l n i e d e r s c h l a g* von 250 g *B o u i l l o n - k u l t u r* erhalten! *F o à* und *C a r b o n e*¹⁾ stellten durch Fällen mit Ammonsulfat aus Diplokokkenskulturen einen Giftstoff her, dem die Versuchstiere erst nach längerer Zeit an Marasmus erlagen. Auf einem anderen Wege suchten *C a r n o t* und *F o u r n i e r*²⁾ das Gift zu gewinnen: sie kultivierten die Kokken in Kollodiumsäckchen, die in ein größeres Gefäß mit steriler Flüssigkeit eingehängt wurden. In die letztere hinein diffundierten die Giftstoffe und konnten durch Einengen im luftleeren Raum bei 22° oder Niederschlagen mit Natriumphosphat und Kalziumchlorid erhalten werden. Ihre Wirkung soll ähnlich sein derjenigen, die lebende Kokken im infizierten Körper entfalten. Angaben über die Giftmengen, die in erster Linie wichtig wären, fehlen. Nach alledem war wenig Aussicht vorhanden, daß es gelingen sollte, das echte Pneumokokkengift aus künstlichen Kulturen zu gewinnen. Jedoch glückte es *M a c f a d y e n*³⁾ durch Verreibung der gefrorenen *P n e u m o k o k k e n l e i b e r*, Behandeln mit 1‰ Kalilauge ein Gift zu erhalten, das um so stärker war, je größer die Virulenz der Kokken, namentlich für Meerschweinchen, die durch 0,05 ccm getötet wurden. Ob die große Empfindlichkeit dieses Giftes gegen Hitze, Chloroform usw. es erklärt, daß es den früheren

1) Ref. Zentralbl. f. Bakt. 10. 223.

2) Arch. méd. expér. 1900.

3) Zentr. Bakt. 43, 1907.

Forschern entgangen ist, steht dahin. Ebenso ist fraglich, ob das von Heyrowsky¹⁾ gefundene hämorrhagische Gift regelmäßig von den Pneumokokken (und Strept. mucosus) gebildet wird. Es wurde nachgewiesen in den Filtraten von 24stündiger (nicht von 8tägiger) Traubenzuckerbouillon.

Die Produkte der Pneumokokken im lebenden Körper besitzen allerdings auch nicht immer, aber doch öfters erhebliche Giftigkeit.

So fanden z. B. die Gebrüder Klemperer 20 ccm eines eitrigen metapneumonischen Pleuraexsudats vom Menschen für Kaninchen unschädlich. Hier war aber der Einwand möglich, daß die Gifte, weil die Infektion schon vorher zum Stillstand gekommen war, aus dem Exsudat verschwunden war. Darum versuchte es F. Klemperer²⁾ mit dem frischen Pleuraexsudat von einem Hunde und fand das in der Tat nach Filtration durch Kieselgur noch giftig für andere Hunde. Nach denselben beiden Forschern verhält es sich ebenso mit dem Blutserum von infizierten Kaninchen, die sie kurz vor dem Tode entbluteten: in der Tat töteten schon 10—20 ccm davon, d. h. etwa 2% des Körpergewichts, kleine Kaninchen. Ähnliche Mengen des nur schlecht gerinnenden, 2 Stunden bei 58° sterilisierten Blutes oder der ebenso behandelten Peritonealexsudate von septizämischen Kaninchen sind nach Issaef³⁾ giftig. Nach diesem Forscher kann man das Gift auch dadurch nachweisen, daß man das Blut der an Septizämie gestorbenen Kaninchen mit gleichen Teilen einer 1prozentigen leicht alkalischen Glyzerinlösung vermischt, durch Porzellan filtriert und intravenös Kaninchen einspritzt. Manchmal war es dann schon zu 1% des Körpergewichts wirksam. Man würde daraus schließen können, daß die Tiere bei ihrem Tode an der Diplokokkenseptizämie etwa siebenmal zuviel Gift in ihrem Blute enthalten. Kruse und Pansini suchten dieses Blutgift auf folgende Weise darzustellen. Sie entnahmen das Blut von Kaninchen, die an der Infektion gestorben waren, unter allen Vorsichtsmaßregeln, ließen es in dünner Schicht bei 37° trocknen und bewahrten es bei gewöhnlicher Temperatur auf, bis sie 52 g trockenes Blut gesammelt hatten. Dieses Material wurde fein pulverisiert und mit saurem Alkohol einige Stunden stehen gelassen. Der alkoholische Auszug wurde — ohne Erfolg³⁾ — auf Alkaloid verarbeitet. Das durch den Alkohol koagulierte Blut wurde mit 100 g Chloroformwasser einige Stunden lang bei 37° ausgezogen und unter der Luftpumpe filtriert. 6 ccm der Lösung, entsprechend 17,5 g flüssigen Blutes, riefen bei Meerschweinchen eigentümliche Vergiftungserscheinungen, nämlich langdauernde Krämpfe hervor, während ein Kaninchen von 700 g auf dieselbe Gabe nur vorübergehende Schwäche und Lähmung zeigte. Leider versäumten wir, die tödliche Menge des Giftes für die Kaninchen zu bestimmen, weil wir den Rest des wässrigen Blutauszuges zur reinen Darstellung des giftigen Körpers benutzen wollten. Die Fällung mit Alkohol ergab aber nur ein viel schwächer wirkendes Präparat, das allerdings noch Mäuse unter Krämpfen in wenigen Minuten tötete. Bei der Wiederholung des Versuchs mit 7,5 g frisch ge-

1) Wien. klin. Woch. 1907. 9.

2) Arch. experim. Path. 31, 1893.

3) Bonardi will allerdings sogar aus Bouillonkulturen ein sehr giftiges Alkaloid dargestellt haben (Baumgartens Jahresb. 1889. 56).

getrockneten Blutes erhielten wir ähnliche Ergebnisse. Es lohnte sich wohl, der Sache weiter nachzugehen.

Die bisherigen Beobachtungen sprechen nach Issaef nicht dafür, daß eine Immunisierung gegen das Pneumokokkengift möglich ist; Menes fand allerdings, daß das Serum von immunisierten Pferden die fieberregende und marasmuserzeugende Wirkung der Pneumokokkenfiltrate vermindere, während normales Pferdeserum nicht dazu imstande sei. Dahingestellt soll bleiben, ob man auf ähnlichem Wege wie bei den Streptokokken (s. u.), durch richtige Zusammenstellung des künstlichen Nährbodens, nicht ebenso gute oder noch bessere Ergebnisse erzielen könnte.

§ 295. Streptokokkengift. Widerspruchsvoller erscheinen zunächst die Erfahrungen, die man mit Eiterstreptokokken (*Strept. pyogenes*) gemacht hat. Wahrscheinlich hängt das zum Teil damit zusammen, daß es mehr oder weniger giftige Stämme dieser Mikroorganismen gibt, und liegt zum anderen Teil an der Wahl des Nährbodens.

Manchen Forschern¹⁾ ist es nicht gelungen, in jungen oder älteren kultivierten Kulturen oder den durch Hitze oder Chloroform abgetöteten Bakterien Gifte, die mehr als örtliche Wirkungen entfalten, nachzuweisen. De Giaksa und Pane spritzten z. B. einem Kaninchen, das 1820 g schwer war, 227 ccm einer 37 Tage alten Streptokokkenkultur ohne Erfolg in das Blut. Ebenso unschädlich erwiesen sich nach v. Lingelsheim²⁾ die bei 65° abgetöteten Leiber der Streptokokken, die den Bodensatz eines halben Liters Bouillonkultur bildeten, für ein Kaninchen von 1000 g. Derselbe Autor erhielt aber gelegentlich auch eine Kultur, deren Filtrat in Mengen von 2,5 ccm junge Kaninchen und Meerschweinchen vom Bauchfell aus schnell, häufig unter Krämpfen tötete. Man wird wohl daraus den Schluß ziehen können, daß die Giftigkeit eine nur bestimmten Streptokokken angehörige Eigenschaft sei³⁾. Marmorek⁴⁾ gibt allerdings an, daß durch Züchtung in bestimmten Nährböden die Giftigkeit aller Streptokokken soweit getrieben werden könne, daß ihre alten Filtrate in Mengen von 0,25—0,5 ccm Kaninchen in einigen Tagen töten⁵⁾. Er empfiehlt, sie zuerst in Blutserum von nicht empfänglichen⁶⁾

1) Aronson, Berl. klin. Woch. 1896. 32; de Giaksa und Pane, Riforma medica 1896 (Baumgartens Jahresber.); Hilbert, Festschrift für Jaffe (Deutsch. Arch. klin. Med. 1902).

2) Handb. path. Mikr. (Kolle-Wassermann) 3. 356, 1903.

3) Vgl. S. 960 die Angaben Heyrowskys über das Vorkommen hämorrhagischen Giftes beim *Strep. mucosus*. Die Arbeiten Homénis und seiner Schüler über die Wirkungen der Streptokokkengifte auf bestimmte Organe werden uns in der Infektionslehre beschäftigen. Auch sie beziehen sich wohl auf besonders giftige Abarten (vgl. u. Laitinen).

4) Annal. Pasteur 1895 und 1902 (auch Berl. klin. Woch. 1902. 253).

5) Raczynski (D. Arch. klin. Med. 58, 1897) hatte einen Streptokokkus in Händen, der in gewöhnlicher Bouillon ebenso starke Gifte bildete (vgl. die Blutdruckversuche in der Infektionslehre).

6) In den Bauchraum eines immunisierten Meerschweinchens werden 10 ccm steriler Bouillon gespritzt, die Bauchhöhle am folgenden Tage mit Kochsalzlösung ausgewaschen und die so erhaltene Leukozytenaufschwemmung im Verhältnis von 1 : 3 mit dem Serum eines anderen immunisierten Meerschweinchens vermischt.

oder künstlich immunisierten Tieren, das mit **L e u k o z y t e n** derselben Tiere gemengt ist, zu kultivieren und sie dann in Bouillon mit einem Gehalt von Leuzin und Glykokoll¹⁾ zu übertragen, indem er von der Erfahrung ausgeht, daß die Giftbildung einerseits eine gewisse Widerstandsfähigkeit des Organismus gegen eine zu frühzeitige Überschwemmung mit lebenden Bakterien voraussetzt, andererseits der Nährboden ein möglichst lange dauerndes Wachstum gestatten müsse, wenn genügende Mengen des Giftes entstehen sollen. **S i m o n** ²⁾ kommt neuerdings zu einem ähnlichen Ergebnis: die Streptokokken sollen ihr Gift besonders dann ausscheiden, wenn sie der Einwirkung bakterienwidriger Kräfte unterliegen: in künstlichen Kulturen kann man das am besten dadurch erreichen, daß man die Kokken unter **S a u e r s t o f f a b s c h l u ß** in einem Gemisch von 2 Teilen Streptokokkenexsudat mit 1 Teil Bouillon züchtet. Das Wachstum ist zwar darin nur spärlich, die Giftigkeit der Filtrate aber keine geringe, da sie Kaninchen bei subkutaner Einspritzung in Mengen von 2—7½ ccm töteten. **v. Bardeleben** ³⁾ erhielt ebenfalls keine Giftwirkungen mit Kulturmateriel oder auch mit Blutfiltraten von Tieren, die an der Infektion gestorben waren. Sobald er aber Streptokokken in eine durch Aleuronat entzündete Pleurahöhle einspritzte, wurde dies Exsudat giftig, und zwar stärker bei Verwendung von wenig virulenten als von virulenten Kokken. Auch in künstlichen Nährböden, die mit Leukozyten versetzt waren, erhielt sich dann diese Giftigkeit bis zu einem gewissen Grade. Über die Untersuchungen desselben Forschers, die die gerinnungserzeugenden und zerstörenden Wirkungen der Streptokokken auf Leukozyten und Blutkörper betreffen, werden wir an anderer Stelle (§ 317) sprechen.

Mehrere Forscher glauben, durch Wahl einfacherer künstlicher Nährböden oder Veränderung der Darstellungsmethoden Erfolge erzielen zu können. Nach **Parascandolo** ⁴⁾ wäre schon eine 2prozentige Zuckerbouillon zur Gewinnung des Giftes ebensogut geeignet wie die Serummischung. **Aronson** ⁵⁾ empfiehlt neuerdings eine Pferdefleischbouillon mit nur 0,1% Zucker und 0,5% Pepton und Kochsalz, auch seien nicht die Filtrate, wohl aber die ganzen Kulturen, die bei 70° oder durch Chloroform abgetötet seien, in Mengen von 2—3 ccm für Kaninchen tödlich. Die Giftigkeit der Streptokokken ließen sich auch **Macfadyen** und **Rowland** ⁶⁾ bestätigen, indem sie die gut gewaschenen Streptokokken (aus Kulturen von Peptonbouillon mit Zusatz von frischem Pferdeserum) in der schon öfter erwähnten Weise bei der Temperatur der flüssigen Luft zerrieben und auspreßten. Von der 10prozentigen Lösung des Bakteriensaftes genügte 0,1 ccm, intraperitoneal eingespritzt, um Meerschweinchen in wenigen Stunden zu töten.

Auch aus verhältnismäßig wenig giftigen älteren Bouillonkulturen gelang es **Laitinen** ⁷⁾ durch Fällung mit Ammoniumsulfat und nach-

1) Zu 250 g Peptonbouillon werden je 10 ccm einer Leuzinlösung (0,4 : 150 Bouillon) und einer Glykokollösung (0,5 : 100 Bouillon) gesetzt.

2) Zentr. Bakt. 35, 1904.

3) Arch. f. Gynäk. 83. 62, 1907.

4) Wien. klin. Woch. 1897. 38/39.

5) Berl. klin. Woch. 1902. 42.

6) Zentralbl. Bakt. 35, 1904.

7) Zieglers Beitr. 25. 10, 1899.

gender Dialyse, noch besser durch Ausschütteln mit Amylalkohol auf 500 ccm Kultur), Trocknen des danach sich oben absetzenden Schaumes und Auflösen in Kochsalzlösung, kräftige Gifte zu erhalten, Kaninchen in großen Gaben schnell, in kleinen Gaben langsam töteten und in den einzelnen Organen (Lungen, Nerven u. a. m.) charakteristische Erkrankungen entfalteten (vgl. Infektionslehre).

Auch über die Widerstandsfähigkeit des Streptokokkengiftes lauten Angaben verschieden. Die meisten Forscher halten es für hitzeempfindlich, doch scheint Erhitzung auf 60—70° (Laitinen) und selbst auf 100° nur teilweise zu schädigen (v. Lingelsheim).

Nach Marmorek unterliegt es keinem Zweifel, daß man Tiere gegen das Streptokokkengift immunisieren kann; allerdings ist die schützende Wirkung ihres Blutserums keine erhebliche. So neutralisierten B. 5 ccm nur eine tödliche Gabe.

Mit dem echten Gifte der Streptokokken haben anscheinend ihre Immolyse nichts zu tun (§ 312 u. 315). — Sehr wahrscheinlich sind Streptokokken, wie die allermeisten anderen Bakterien, in den Magensaftkanal eingeführt, ungiftig. Dafür spricht die Tatsache, daß große Mengen von saprophytischen (*Str. lacticus*) und tierpathogenen (*Str. faecalis*, *Str. dysenteriae*) Streptokokken in roher oder saurer Milch und Milchpräparaten (Molke, Kefir, Joghurt, Seiferts Uviolmilch) von Erwachsenen und Kindern ohne Schaden genommen werden. Der Versuch Petruschky's¹⁾, die Sommerdiarrhöe der Säuglinge auf die Leibesgifte der Streptokokken zurückzuführen, erscheint daher mißlungen. Ganz willkürlich ist die Annahme dieses Forschers, diese Gifte würden durch Säuren inaktiviert und seien daher in saurer Milch unschädlich. Das ist bei den übrigen Endotoxinen keineswegs der Fall und würde, wenn es zuträfe, stets die Harmlosigkeit der mit dem Magensaft in Berührung kommenden Milchstreptokokken bedingen.

§ 296. Meningokokkengift. Die Giftigkeit der Meningokokken (*Neisseria meningitidis*) ist erst in letzter Zeit studiert worden. Albrecht und Ghon²⁾ geben nur ganz kurz an, daß abgetöteten Bakterienleiber, nicht die Kulturfiltrate, bei intraperitonealer Einverleibung Mäuse töten. Markl³⁾, Flexner⁴⁾, Kraus und Dörr⁵⁾ haben das im wesentlichen bestätigt, doch gelingt es ziemlich leicht, das Gift aus den Leibern auszuziehen, indem man sie entweder einer kurzen Selbstverdauung mit Alkohol überläßt oder mit destilliertem Wasser bzw. $\frac{1}{10}$ Normalsoda-Lösung auszieht. Immerhin sind große Mengen, z. B. 25—50 ccm des

1) Ursache der Sommersterblichkeit der Säuglinge in der Gesundheitsstatistik 1904 und 1908 (auch Sonderabdruck bei Leineweber). Vgl. dazu die Verhandlungen der vereinigten Abt. für Kinderheilkunde und Hygiene auf der Naturf.-Versamml. in Königsberg 1910 mit dem Vortrage von Puppel und den Bemerkungen von Kruse (auch Zeitschr. f. Hyg. 1911).

2) Wien. klin. Woch. 1901. 41.

3) Zentr. Bakt. 43. 95, 1907.

4) Ebenda 43. 101.

5) Wien. klin. Woch. 1908. 1.

Autolysats, einer Halbliterkultur nötig, um ganz junge Meerschweinchen vom Bauchfell aus zu töten (F l e x n e r). Das Immunserum vermag zwar die doppelte tödliche Giftgabe zu neutralisieren, aber nur bei vorheriger Einspritzung, ist also vielleicht nicht antitoxisch im eigentlichen Sinne (K r a u s und D ö r r).

§ 297. Gonokokkengift. Ein ziemlich ähnliches Ergebnis haben die zahlreichen Arbeiten über das Gift der nahe verwandten G o n o - k o k k e n ergeben. Daß die Gonokokken giftig sind, kann man schon daraus ersehen, daß ihre lebenden Kulturen, wenn sie üppig entwickelt sind, in großen Mengen Mäuse (0,3—1 ccm) und Meerschweinchen (5—10 ccm) ins Bauchfell eingespritzt, aber auch Kaninchen vom Blutwege aus töten, obwohl die Kokken sich in ihnen nicht vermehren, sondern absterben. Die nähere Untersuchung¹⁾ hat gezeigt, daß Kulturen, die durch Hitze von 50—70° abgetötet sind, die gleiche Wirkung zeigen, daß die Giftigkeit von Filtraten²⁾ zuerst gering ist, aber mit dem Alter wächst. Es macht ganz den Eindruck, daß das Gift allmählich aus den absterbenden Gonokokken in die Flüssigkeit diffundiert. Dementsprechend kann man auch die Leiber der Kokken allein benutzen. Nach N i c o l a y s e n töten z. B. 10 mg der gewaschenen und getrockneten Bakterien aus einer 7tägigen Aszitesbouillon Mäuse vom Bauchfell aus in 24 Stunden. Durch Kochen mit Wasser oder $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge ließ sich das Gift nicht aus den Bakterien ausziehen, wurde aber auch nicht dadurch zerstört.

Gegen die Anschauung, daß das Gift beim Absterben der Gonokokken frei würde, führt d e C h r i s t m a s ins Feld, daß, wenn man in einer frischen Kultur, die nur gut färbbare Kokken enthält, die Flüssigkeit, die kaum giftig ist, abhebt, durch neue ersetzt und dann die Kultur bei 20° stehen läßt, diese auch nach acht Tagen noch nicht giftig ist, obwohl alle Kokken durch ihre mangelnde Färbbarkeit sich als abgestorben erweisen. d e C h r i s t m a s betrachtet deshalb das Gift als Produkt der Lebenstätigkeit. Eher scheint uns aus seinen wie aus N i c o l a y e n s Versuchen hervorzugehen, daß das Gift nur

1) d e C h r i s t m a s, Annal. Pasteur 1897 und 1900; S c h ä f f e r. Ergebn. d. allgem. Pathol. (L u b a r s c h - O s t e r t a g s) 2. Jahrg. 1897. 131. N i c o l a y s e n, Zentr. Bakt. 22. 12/13, 1897; W a s s e r m a n n, Berl. klin. Woch. 1897. 32 und Zeitschr. f. Hyg. 27, 1898; L a i t i n e n, Zentr. Bakt. 23. 20, 1898; M o l t s c h a n o f f, Münch. med. Woch. 1899. 31; S c h o l t z, Arch. f. Dermatol. 49, 1899; C a n t a n i, ref. Zentralbl. Bakt. 29. 1899; V a n n o d, Zentr. Bakt. 44, 1907.

2) Chamberlandfilter halten die Gifte zurück, weniger Berkefeldfilter; am besten filtriert man durch Papier, das man mit etwas Talk bestreut hat.

unter bestimmten Absterbebedingungen, wozu auch die Temperatur von 37° bis 40° gehört, frei wird. Berechtigt ist dagegen vielleicht der Einwand de Christ-
mas, daß die meisten Forscher nur mit wenig giftigen Kulturen, überhaupt nicht mit dem echten Gonokokkengift gearbeitet haben.

Nach ihm sind die gewöhnlichen Aszitesbouillonkulturen ziemlich unwirksam; viel giftiger erweisen sich die Gonokokken, wenn man sie in einer Mischung von Aszitesflüssigkeit ($\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{3}$) und stark¹⁾ eingengter Bouillon ohne Pepton züchtet. Die Kulturen sind am giftigsten nach 2—4 Wochen, und zwar macht es dann für den Erfolg wenig aus, ob man den Niederschlag der Kultur, der aus den Bakterienleibern besteht, der die darüber stehende klare Flüssigkeit benutzt. Die Giftigkeit bleibterner unberührt durch 1½ständiges Erhitzen auf 60°, wird aber durch Anwendung höherer Temperaturen stark herabgesetzt und verschwindet zwischen 75—80°. Der Zusatz von etwas Glyzerin vermindert die Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen. Am schönsten läßt sich nach de Christ-
mas die Wirksamkeit dieses Gonokokkengiftes nachweisen, wenn man es Meerschweinchen unter die Hirnhaut einbringt. Die Operation ist bei einiger Übung sehr einfach. Mit einem kleinen Trepan (von 1 mm Durchmesser) bohrt man etwa 1 cm hinter den Augenhöhlen gerade neben der Mittellinie ein Loch durch den Schädel. Eine Blutung, die etwa eintritt, läßt sich leicht stillen. Dann führt man das Gift durch eine Kanüle ein, die man 2 mm oberhalb der Spitze mit einem Ring versehen hat, um nicht zu tief einzudringen. Das Gonokokkengift tötet, auf diese Weise eingeführt, Meerschweinchen schon in Mengen von 0,001 bis 0,01, während die unbeimpfte Kulturflüssigkeit ohne Schaden ertragen wird. Die Vergiftung macht sich schon nach einigen Stunden bemerkbar: das Tier bleibt unbeweglich, wird von kurz dauernden Krämpfen geschüttelt, fällt auf die Seite und stirbt in 6—10 Stunden. Diese Angaben de Christ-
mas' kann ich vollständig bestätigen. Das Gift ist auch leichter zu gewinnen, als auf einem der sonst empfohlenen Nährböden; z. B. hat mir das Verfahren Wassermanns²⁾ keine guten Ergebnisse geliefert; Kaninchenserum, das sich ebenfalls gut eignen soll, kommt im allgemeinen nicht in Betracht, weil es nur schwer in den nötigen Mengen zu erhalten ist. Eine stark örtliche Einwirkung zeigt das Gift an anderen Körperstellen, namentlich nach Christmas in der vorderen Augenkammer, auf Schleimhäuten fast gar nicht bei Tieren, wohl beim Menschen (vgl. Infektionslehre).

Nach de Christ-
mas können Tiere nicht nur durch intrazerebrale Einspritzung kleiner Mengen, sondern ebenso durch subkutane Behandlung, zu der stets viel größere Mengen nötig sind, gegen das Gonokokkengift immunisiert werden. Das Serum der giftfesten Tiere (Ziegen) soll antitoxisch wirken; z. B. neutralisieren 0,5 ccm Serum 10 ccm Giftlösung, d. h. 5000 tödliche Dosen. Eigene nicht veröffentlichte Versuche, vom Pferde ein antitoxisches Serum zu gewinnen, sind fehlgeschlagen.

1) Auf den vierten Teil.

2) Hämoglobinfreies Schweineserum 15 ccm + 35 Wasser + 2—3 ccm Glyzerin + 0,8 g Nutrose, über der freien Flamme unter Umschütteln zu kochen.

Neuerdings gibt V a n n o d an, das Gonokokkengift C h r i s t m a s' sei nur für Meerschweinchen giftig und eigne sich nicht zur Immunisierung. Dagegen sei das „Nukleoproteid“ der Gonokokken, d. h. das durch Ausziehen mit Alkali gewonnene Eiweiß, für K a n i n c h e n vom Blut aus in Gaben von 0,05 g tödlich. Die ohne Wartezeit eintretenden Erscheinungen sollen von A l k a l o i d e n, die neben den Nukleoproteiden in den Giften enthalten seien, abhängen. Eine Immunisierung gegen dieses Gift sei in freilich sehr beschränktem Grade möglich.

Eine praktische Bedeutung haben wohl alle diese Angaben über Gonokokkengift nicht, da Allgemeinerscheinungen bei der natürlichen Infektion meist fehlen und die örtlichen sich aus den entzündungserregenden Eigenschaften der Gonokokken genügend erklären.

§ 298. Staphylokokkengift. Die Giftigkeit des Staphylococcus pyogenes schwankt in weiten Grenzen. Man muß nach v. L i n g e l s h e i m ¹⁾ die der Kulturfiltrate, die bei weitem größer ist, und der Staphylokokkenleiber scharf unterscheiden.

Daß die F i l t r a t e giftig sein können, zeigten, von älteren Beobachtungen R i b b e r t s ²⁾ u. a. abgesehen, zuerst C o u r m o n t und namentlich M o s n y und M a r c a n o ³⁾. Sie konnten Kaninchen auf dem Blutwege durch 5—10 ccm Filtrat virulenter Kulturen schnell töten. Gewöhnlich bedarf man aber viel größerer Mengen, so mußte P e t e r s e n ⁴⁾ 70—100 ccm einspritzen, um Wirkungen zu erzielen. Auf der anderen Seite gelingt es nach v. L i n g e l s h e i m, die Giftigkeit so zu steigern, daß 2 ccm eines 10tägigen Filtrats Kaninchen von 1000 g Gewicht nach Einspritzung ins Blut binnen einer Stunde, unter die Haut in 2—3 Tagen töten. Die Virulenz⁵⁾ und Herkunft sollen dabei eine viel geringere Rolle spielen als das Züchtungsverfahren, dessen Eigentümlichkeiten freilich nicht näher angegeben werden. Exsudate von Tieren enthalten nach derselben Quelle mehr Gift als Kulturen. Vielleicht ist mit diesem Filtratgift verwandt das von K r a u s und P r i b r a m ⁶⁾ gefundene. Sie studierten namentlich die akute Wirkung im Blute von Kaninchen, die sie als Herzvergiftung auffassen (über Antitoxin s. u.). Neben den allgemeinen Vergiftungserscheinungen bewirken die Staphylokokkenfiltrate noch eine starke örtliche Reizung, die übrigens bei Gelegenheit der Untersuchungen über die Ursache der Eiterung schon viel früher gefunden wurde (vgl. S. 909), ferner zerstören sie weiße Blutkörperchen, besonders die der Kaninchen (§ 317), rote Blutkörperchen (§ 312), Nierenepithelien (§ 318), rufen Darmerscheinungen und allgemeinen Marasmus (M o s n y und

1) Ätiologie und Therapie der Staphylokokkeninfekt. (B e h r i n g s Beitr. experim. Ther. 1900).

2) Vgl. § 318.

3) Semaine médicale 1894. 549.

4) B r u n s Beitr. z. Chir. 19, 1879.

5) Nach v a n d e V e l d e (La Cellule 10, 1894) wäre gar kein Unterschied zwischen dem Gifte virulenter und abgeschwächter Staphylokokken, doch zeigten sich seine Gifte überhaupt sehr wenig wirksam. Für das Leukozidin und Lysin der Staphylokokken scheint der Satz besser bewiesen zu sein.

6) Wien. klin. Woch. 1906. 17.

Marcano) hervor. In welcher Beziehung dieses „Leukozidin“, „Hämolysin“ (Staphylolysin), „Nephrotoxin“ usw. zueinander und dem Hauptgifte stehen, ist noch nicht ganz sicher¹⁾. Für die Einheit aller dieser Gifte spricht, daß sie gewöhnlich und zwar in entsprechendem Verhältnis, nebeneinander gefunden werden (von Lingelsheim) und sämtlich empfindlich gegen Erhitzung (55—60°) sind. Doch machten Neißer und Wechsberg die Beobachtung, daß Hämolysin und Leukozidin voneinander unabhängig auftreten (vgl. § 317). Auch findet von Lingelsheim, daß der Alkoholniederschlag der Filtrate diese starken örtlich reizenden Eigenschaften noch zeigt, aber eine Einbuße an der allgemeinen Giftigkeit und einen vollständigen Verlust seiner leukozytentötenden Wirkung aufweist. Auch bei längerem Aufbewahren der Filtrate machen sich ähnliche Veränderungen des Giftes bemerkbar. Eine wichtige Eigenschaft des Staphylokokkengiftes ist nach v. Lingelsheim, daß es viel energischer auf Kaninchen wirkt als auf Mäuse und Meerschweinchen. Das oben erwähnte Filtrat tötete Mäuse erst bei intraperitonealer Einverleibung in einer Menge von 1 ccm binnen 4 Tagen und Meerschweinchen auf demselben Wege erst in Gaben von mehr als 5 ccm. Die Giftempfindlichkeit der Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen verhält sich also etwa wie 2 : 3 : 30.

Was die Natur des Staphylokokkenfiltratgiftes anlangt, so hat man auch hier nach Pto-mainen gesucht und glaubte sie auch teilweise entdeckt zu haben. Doch hat Leber selbst sein „Phlogosin“ (S. 820), das übrigens aus den Staphylokokkenleibern dargestellt war, später nicht mehr wiedergefunden, ebensowenig wie v. Lingelsheim. Letzterer Forscher hat auch in den nach dem Verfahren von de Christmas²⁾, sowie von Rodet und Courmont³⁾ aus Staphylokokkenkulturen dargestellten alkohollöslichen Stoffen keine erhebliche Giftwirkung nachweisen können. Daß organische Säuren, wie Ameisen-, Butter-, Baldriansäure, die im Stoffwechsel der Staphylokokken gebildet werden, nicht, wie Terni⁴⁾ es will, diese Giftigkeit bedingen können, folgt, abgesehen davon, daß sie hitzebeständig sind, schon aus der geringen Menge, in der sie entwickelt werden. Es unterliegt dagegen keinem Zweifel, daß das Gift wenigstens zum allergrößten Teil durch Alkohol oder Ammonsulfat aus dem Filtrate niedergeschlagen werden kann⁵⁾. Ob es als Ferment (de Christmas) oder Toxalbumin (Brieger und Fränkel⁶⁾) zu bezeichnen wäre, ist aber fraglich. In der Gabe von 0,04 g, in welcher nach v. Lingelsheim bestenfalls die Alkoholfällung der Bouillonfiltrate Kaninchen von

1) Nach P. Th. Müller gibt es ferner in den älteren Filtraten (und in den Leibern) der Staphylokokken gewisse Stoffe, die im Knochenmark reichliche Fibrinogenbildung hervorrufen (Sitzungsber. Wien. Akad. 114 u. 115, 1905 u. 1906), und die mindestens von den Leuko- und Hämolysinen verschieden sind.

2) Rech. expérim. sur la suppuration. Paris 1888.

3) Province médicale 1891. 481 und Bull. méd. 1892. 84; Semaine médicale 1894. 559.

4) Rivista d'igine 1893 (Baumgartens Jahresber.).

5) Vgl. M. Neißer und Lipstein, Handb. pathog. Mikr. (Kolle-Wassermann) 3. 124, 1903.

6) Berl. klin. Woch. 1890.

1000 g tötet, wird jedenfalls der bei weitem größte Teil aus dem Gift anhängenden unwirksamen Material (Eiweiß u. a.) bestehen.

Gegen das Filtratgift der Staphylokokken lassen sich Tiere auch immunisieren (Reichel, Mosny und Marciano, Capmann, Kraus und Pribram), ebenso gegen das Leukozidin (Denys und van de Velde u. a.) und Staphylolysin (Neißer und Wechsberg). Die Schutzkraft tritt auch im Serum, allerdings nur gegenüber den letzteren beiden Giften, in erheblichem Grade hervor; dabei hat sich herausgestellt, daß das Staphylolysin durch Lagern eigentümliche Veränderungen erleidet, die der Toxoidbildung bei Diphtherie- und Tetanusgift entsprechen (S. 833).

Die Leibes substanz der Staphylokokken ist nach den meisten Forschern sehr wenig giftig.

Der Bakterienrasen von 3—6 dreitägigen Agarkulturen, der in feuchtem Zustand 300—600 mg, im trockenen 40—90 mg wiegt, tötet nach v. Lingelsheim, 25 Minuten auf 100° erhitzt, Meerschweinchen von 300 bis 400 g vom Bauchfell aus binnen 24 Stunden unter den bekannten Erscheinungen des Cholerakollapses. Kaninchen und Mäuse sind für dieses Leibesgift verhältnismäßig ebenso empfänglich wie Meerschweinchen, man bedarf daher riesiger Mengen, um erstere Tiere zu töten. Nach Kutscher und Konrich¹⁾ werden bei intravenöser Einspritzung selbst 20—30 Agarkulturen auf einmal von ihnen übertragen. Wenn man so große Massen den Tieren einverleiben will, muß man natürlich an die möglicherweise eintretenden mechanischen und thermischen Schädigungen denken: am besten ist es, man entnimmt vor der Einspritzung diesen Tieren entsprechende Mengen Blutes und erwärmt die Injektionsflüssigkeit auf Bluttemperatur. Man darf nicht etwa denken, daß das Leibesgift der Staphylokokken durch die Erhitzung bis 100° stark geschwächt würde, denn bei den Endotoxinen anderer Bakterien ist das auch nicht der Fall. Nach v. Lingelsheim sind auch die Leiber der Staphylokokken, wenn man sie gar nicht erhitzt, sondern nur nach der von R. Koch für die Tuberkelbazillen vorgeschlagenen Methode durch gründliches Zerreiben in trockenem Zustande abtötet, nicht giftiger. Auch macht es keinen Unterschied, ob man virulente oder wenig virulente Kokken verwendet. Bemerkenswert ist, daß etwa 90% des dabei erhaltenen trockenen Pulvers in Wasser löslich ist; die Lösung besitzt eine schwach alkalische Reaktion, wird durch Kochen nicht koaguliert, aber durch Essigsäure gefällt. Der Niederschlag löst sich nicht in einem Überschuß von Essigsäure, wohl in schwachen Alkalien wieder auf, aber nur wenn er frisch ist. Einmal getrocknet, wird die Substanz in allen Lösungsmitteln unlöslich. Die Lösung gibt die bekannten Eiweißreaktionen, wird ferner gefällt durch Alkohol, zum Teil durch Sättigung mit Kochsalzlösung, durch Kupfer-, Blei- und Quecksilbersalz, auch durch die basischen Anilinfarben, die sie aber im Überschuß wieder auflösen. Das Leibesgift der Staphylokokken besitzt auch örtlich reizende, eiterungerregende Eigenschaften, doch nicht in so erheblichem Grade als das Filtrat, Leukozidin enthält es nur in Spuren. Wenn man daher auch nicht leugnen kann, daß in älteren Kulturen ein Teil dieses Giftes in Lösung gehen wird, so spielt es gegenüber dem in den Filtraten enthaltenen Gift keine wesentliche Rolle.

1) Zeitschr. f. Hyg. 48. 260, 1904.

Mit dieser schwachen Wirkung der Staphylokokkenleiber stimmt nun freilich nicht der Umstand zusammen, daß sich nach dem Verfahren von Macfadyen und Rowland¹⁾ aus den Leibern der Staphylokokken ein starkes Gift gewinnen läßt. Eine 10prozentige Lösung des Preßsaftes tötet Meerschweinchen vom Bauchfell aus in einer Menge von 0,3 ccm binnen 8 Stunden. Wie sich dieser Widerspruch löst, wäre noch auszumachen. Zu bedenken ist ferner, daß die Wertschätzung der Filtratgifte dadurch sehr beeinträchtigt wird, daß es auch in den virulenten Kokken nicht beständig gebildet wird. Man könnte deshalb ihre Bedeutung für das natürliche Infektionsbild leugnen. Allerdings haben Bail und Weil²⁾, wie schon v. Lingelsheim, auch in Staphylokokkenexsudaten giftige Wirkungen gefunden. Es fragt sich aber wieder, ob das eine beständige Eigenschaft ist.

Gerade bei den Staphylokokken ist die Frage, ob die Filtratgifte als echte Sekrete aufzufassen sind, vielleicht am ehesten zu bejahen. Immerhin ist, wenn man sich auch auf den Standpunkt stellt, daß die jungen Leiber die charakteristischen Gifte noch nicht enthalten, damit noch nicht ganz sicher gestellt, daß sie Sekrete seien, denn in ganz jungen Kulturen fehlen sie auch in den Filtraten, und wenn sie später in den letzteren auftauchen, könnten sie ebensowohl durch die regelmäßig in älteren Kulturen stattfindende Entartung bzw. den Zerfall der Leiber frei werden. Vielleicht bringen autolytische Versuche eine Entscheidung der Frage; allerdings leistet dem Augenschein nach zu urteilen (§ 9) die Selbstverdauung bei den Staphylokokken wie bei den meisten grampositiven Bakterien viel weniger wie bei den gramnegativen (vgl. Pestbazillen S. 954).

Von den Staphylokokken, die bei Krankheitsprozessen vorkommen, unterscheiden sich die in der Luft, auf der normalen Haut und Schleimhaut usw. gefundenen saprophytischen Staphylokokken dadurch, daß sie weder Hämolysin noch Leukozidin bilden (Neißer und Wechsberg, Kutscher und Konrich). Wahrscheinlich fehlt ihnen überhaupt die Fähigkeit, Filtratgifte zu bilden, sie werden aber wohl ein ähnliches hitzebeständiges Leibesgift erzeugen wie die pathogenen Staphylokokken und alle anderen Bakterien.

§ 299. Pyocyaneusgifte. Der Bazillus des blauen Eiters ist zwar beim Menschen gewöhnlich ein harmloser Schmarotzer, aber nicht für unsere Versuchstiere. Die Giftigkeit des Bac. pyocyaneus für diese ist ebenso lange bekannt wie seine Infektiosität. Charrin³⁾ be-

1) Zentr. Bakt. 35, 1904.

2) Wien. klin. Woch. 1906. 14.

3) Maladie pyocyanique 1889.

Autolysats, einer Halbliterkultur nötig, um ganz junge Meerschweinchen vom Bauchfell aus zu töten (F l e x n e r). Das Immunserum vermag zwar die doppelte tödliche Giftgabe zu neutralisieren, aber nur bei vorheriger Einspritzung, ist also vielleicht nicht antitoxisch im eigentlichen Sinne (K r a u s und D ö r r).

§ 297. Gonokokkengift. Ein ziemlich ähnliches Ergebnis haben die zahlreichen Arbeiten über das Gift der nahe verwandten G o n o - k o k k e n ergeben. Daß die Gonokokken giftig sind, kann man schon daraus ersehen, daß ihre lebenden Kulturen, wenn sie üppig entwickelt sind, in großen Mengen Mäuse (0,3—1 ccm) und Meerschweinchen (5—10 ccm) ins Bauchfell eingespritzt, aber auch Kaninchen vom Blutwege aus töten, obwohl die Kokken sich in ihnen nicht vermehren, sondern absterben. Die nähere Untersuchung¹⁾ hat gezeigt, daß Kulturen, die durch Hitze von 50—70° abgetötet sind, die gleiche Wirkung zeigen, daß die Giftigkeit von Filtraten³⁾ zuerst gering ist, aber mit dem Alter wächst. Es macht ganz den Eindruck, daß das Gift allmählich aus den absterbenden Gonokokken in die Flüssigkeit diffundiere. Dementsprechend kann man auch die Leiber der Kokken allein benutzen. Nach N i c o l a y s e n töten z. B. 10 mg der gewaschenen und getrockneten Bakterien aus einer 7tägigen Aszitesbouillon Mäuse vom Bauchfell aus in 24 Stunden. Durch Kochen mit Wasser oder $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge ließ sich das Gift nicht aus den Bakterien ausziehen, wurde aber auch nicht dadurch zerstört.

Gegen die Anschauung, daß das Gift beim Absterben der Gonokokken frei würde, führt d e C h r i s t m a s ins Feld, daß, wenn man in einer frischen Kultur, die nur gut färbbare Kokken enthält, die Flüssigkeit, die kaum giftig ist, abhebt, durch neue ersetzt und dann die Kultur bei 20° stehen läßt, diese auch nach acht Tagen noch nicht giftig ist, obwohl alle Kokken durch ihre mangelnde Färbbarkeit sich als abgestorben erweisen. d e C h r i s t m a s betrachtet deshalb das Gift als Produkt der Lebenstätigkeit. Eher scheint uns aus seinen wie aus N i c o l a y e n s Versuchen hervorzugehen, daß das Gift nur

1) d e C h r i s t m a s, Annal. Pasteur 1897 und 1900; S c h ä f f e r, Ergebn. d. allgem. Pathol. (L u b a r s c h - O s t e r t a g s) 2. Jahrg. 1897. 131. N i c o l a y s e n, Zentr. Bakt. 22. 12/13, 1897; W a s s e r m a n n, Berl. klin. Woch. 1897. 32 und Zeitschr. f. Hyg. 27, 1898; L a i t i n e n, Zentr. Bakt. 23. 20, 1898; M o l t s c h a n o f f, Münch. med. Woch. 1899. 31; S c h o l t z, Arch. f. Dermatol. 49, 1899; C a n t a n i, ref. Zentralbl. Bakt. 29. 1899; V a n n o d, Zentr. Bakt. 44, 1907.

2) Chamberlandfilter halten die Gifte zurück, weniger Berkefeldfilter; am besten filtriert man durch Papier, das man mit etwas Talk bestreut hat.

unter bestimmten Absterbebedingungen, wozu auch die Temperatur von 37° bis 40° gehört, freier wird. Berechtigt ist dagegen vielleicht der Einwand de Christas, daß die meisten Forscher nur mit wenig giftigen Kulturen, überhaupt nicht mit dem echten Gonokokkengift gearbeitet haben.

Nach ihm sind die gewöhnlichen Aszitesbouillonkulturen ziemlich unwirksam; viel giftiger erweisen sich die Gonokokken, wenn man sie einer Mischung von Aszitesflüssigkeit ($\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{3}$) und stark¹⁾ eingengter Bouillon ohne Pepton züchtet. Die Kulturen sind am giftigsten nach 2—4 Wochen, und zwar macht es dann für den Erfolg wenig aus, ob man den Niederschlag der Kultur, der aus den Bakterienleibern besteht, oder die darüber stehende klare Flüssigkeit benutzt. Die Giftigkeit bleibt immer unberührt durch $1\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 60° , wird aber durch Anwendung höherer Temperaturen stark herabgesetzt und verschwindet zwischen 75 — 80° . Der Zusatz von etwas Glyzerin vermindert die Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen. Am schönsten läßt sich nach de Christas die Wirksamkeit dieses Gonokokkengiftes nachweisen, wenn man es Meerschweinchen unter die Hirnhaut einbringt. Die Operation ist bei einiger Übung sehr einfach. Mit einem kleinen Trepan (von 1 mm Durchmesser) bohrt man etwa 1 cm hinter den Augenhöhlen gerade neben der Mittellinie ein Loch durch den Schädel. Eine Blutung, die etwa eintritt, läßt sich leicht stillen. Dann führt man das Gift durch eine Kanüle ein, die man 2 mm oberhalb der Spitze mit einem Ring versehen hat, um nicht zu tief einzudringen. Das Gonokokkengift tötet, auf diese Weise eingeführt, Meerschweinchen schon in Mengen von 0,001 bis 0,01, während die unbeimpfte Kulturflüssigkeit ohne Schaden ertragen wird. Die Vergiftung macht sich schon nach einigen Stunden bemerkbar: das Tier bleibt unbeweglich, wird von kurz dauernden Krämpfen geschüttelt, fällt auf die Seite und stirbt in 6—10 Stunden. Diese Angaben de Christas' kann ich vollständig bestätigen. Das Gift ist auch leichter zu gewinnen, als auf einem der sonst empfohlenen Nährböden; z. B. hat mir das Verfahren Wassermanns²⁾ keine guten Ergebnisse geliefert; Kaninchenserum, das sich ebenfalls gut eignen soll, kommt im allgemeinen nicht in Betracht, weil es nur schwer in den nötigen Mengen zu erhalten ist. Eine stark örtliche Einwirkung zeigt das Gift an anderen Körperstellen, namentlich nach Christmas in der vorderen Augenkammer, auf Schleimhäuten fast gar nicht bei Tieren, wohl beim Menschen (vgl. Infektionslehre).

Nach de Christmas können Tiere nicht nur durch intrazerebrale Einspritzung kleiner Mengen, sondern ebenso durch subkutane Behandlung, zu der stets viel größere Mengen nötig sind, gegen das Gonokokkengift immunisiert werden. Das Serum der giftfesten Tiere (Ziegen) soll antitoxisch wirken; z. B. neutralisieren 0,5 ccm Serum 10 ccm Giftlösung, d. h. 5000 tödliche Dosen. Eigene nicht veröffentlichte Versuche, vom Pferde ein antitoxisches Serum zu gewinnen, sind fehlgeschlagen.

1) Auf den vierten Teil.

2) Hämoglobinfreies Schweineserum 15 ccm + 35 Wasser + 2—3 ccm Glyzerin + 0,8 g Nutrose, über der freien Flamme unter Umschütteln zu kochen.

Neuerdings gibt V a n n o d an, das Gonokokkengift C h r i s t m a s ' sei nur für Meerschweinchen giftig und eigne sich nicht zur Immunisierung. Dagegen sei das „Nukleoproteid“ der Gonokokken, d. h. das durch Ausziehen mit Alkali gewonnene Eiweiß, für K a n i n c h e n vom Blut aus in Gaben von 0,05 g tödlich. Die ohne Wartezeit eintretenden Erscheinungen sollen von A l k a l o i d e n , die neben den Nukleoproteiden in den Giften enthalten seien, abhängen. Eine Immunisierung gegen dieses Gift sei in freilich sehr beschränktem Grade möglich.

Eine praktische Bedeutung haben wohl alle diese Angaben über Gonokokkengift nicht, da Allgemeinerscheinungen bei der natürlichen Infektion meist fehlen und die örtlichen sich aus den entzündungserregenden Eigenschaften der Gonokokken genügend erklären.

§ 298. Staphylokokkengift. Die Giftigkeit des Staphylococcus pyogenes schwankt in weiten Grenzen. Man muß nach v. L i n g e l s h e i m ¹⁾ die der Kulturfiltrate, die bei weitem größer ist, und der Staphylokokkenleiber scharf unterscheiden.

Daß die Filtrate giftig sein können, zeigten, von älteren Beobachtungen R i b b e r t s ²⁾ u. a. abgesehen, zuerst C o u r m o n t und namentlich M o s n y und M a r c a n o ³⁾. Sie konnten Kaninchen auf dem Blutwege durch 5—10 ccm Filtrat virulenter Kulturen schnell töten. Gewöhnlich bedarf man aber viel größerer Mengen, so mußte P e t e r s e n ⁴⁾ 70—100 ccm einspritzen, um Wirkungen zu erzielen. Auf der anderen Seite gelingt es nach v. L i n g e l s h e i m , die Giftigkeit so zu steigern, daß 2 ccm eines 10tägigen Filtrats Kaninchen von 1000 g Gewicht nach Einspritzung ins Blut binnen einer Stunde, unter die Haut in 2—3 Tagen töten. Die Virulenz⁵⁾ und Herkunft sollen dabei eine viel geringere Rolle spielen als das Züchtungsverfahren, dessen Eigentümlichkeiten freilich nicht näher angegeben werden. Exsudate von Tieren enthalten nach derselben Quelle mehr Gift als Kulturen. Vielleicht ist mit diesem Filtratgift verwandt das von K r a u s und P r i b r a m ⁶⁾ gefundene. Sie studierten namentlich die akute Wirkung im Blute von Kaninchen, die sie als Herzvergiftung auffassen (über Antitoxin s. u.). Neben den allgemeinen Vergiftungserscheinungen bewirken die Staphylokokkenfiltrate noch eine starke örtliche Reizung, die übrigens bei Gelegenheit der Untersuchungen über die Ursache der Eiterung schon viel früher gefunden wurde (vgl. S. 909), ferner zerstören sie weiße Blutkörperchen, besonders die der Kaninchen (§ 317), rote Blutkörperchen (§ 312), Nierenepithelien (§ 318), rufen Darmerscheinungen und allgemeinen Marasmus (M o s n y und

1) Ätiologie und Therapie der Staphylokokkeninfekt. (B e h r i n g s Beitr. experim. Ther. 1900).

2) Vgl. § 318.

3) Semaine médicale 1894. 549.

4) B r u n s Beitr. z. Chir. 19, 1879.

5) Nach v a n d e V e l d e (La Cellule 10, 1894) wäre gar kein Unterschied zwischen dem Gifte virulenter und abgeschwächter Staphylokokken, doch zeigten sich seine Gifte überhaupt sehr wenig wirksam. Für das Leukozidin und Lysin der Staphylokokken scheint der Satz besser bewiesen zu sein.

6) Wien. klin. Woch. 1906. 17.

M a r c a n o) hervor. In welcher Beziehung dieses „Leukozidin“, „Hämolysin“ (Staphylolysin), „Nephrotoxin“ usw. zueinander und dem Hauptgifte stehen, ist noch nicht ganz sicher¹⁾. Für die Einheit aller dieser Gifte spricht, daß sie gewöhnlich und zwar in entsprechendem Verhältnis, nebeneinander gefunden werden (v o n L i n g e l s h e i m) und sämtlich empfindlich gegen Erhitzung (55—60°) sind. Doch machten N e i ß e r und W e c h s b e r g die Beobachtung, daß Hämolysin und Leukozidin voneinander unabhängig auftreten (vgl. § 317). Auch findet v o n L i n g e l s h e i m, daß der Alkoholniederschlag der Filtrate diese starken örtlich reizenden Eigenschaften noch zeigt, aber eine Einbuße an der allgemeinen Giftigkeit und einen vollständigen Verlust seiner leukozytentötenden Wirkung aufweist. Auch bei längerem Aufbewahren der Filtrate machen sich ähnliche Veränderungen des Giftes bemerkbar. Eine wichtige Eigenschaft des Staphylokokkengiftes ist nach v. L i n g e l s h e i m, daß es viel energischer auf Kaninchen wirkt als auf Mäuse und Meerschweinchen. Das obenerwähnte Filtrat tötete Mäuse erst bei intraperitonealer Einverleibung in einer Menge von 1 ccm binnen 4 Tagen und Meerschweinchen auf demselben Wege erst in Gaben von mehr als 5 ccm. Die Giftempfindlichkeit der Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen verhält sich also etwa wie 2 : 3 : 30.

Was die Natur des Staphylokokkenfiltratgiftes anlangt, so hat man auch hier nach Ptomainen gesucht und glaubte sie auch teilweise entdeckt zu haben. Doch hat L e b e r selbst sein „Phlogosin“ (S. 820), das übrigens aus den Staphylokokkenleibern dargestellt war, später nicht mehr wiedergefunden, ebensowenig wie v. L i n g e l s h e i m. Letzterer Forscher hat auch in den nach dem Verfahren von d e C h r i s t m a s²⁾, sowie von R o d e t und C o u r m o n t³⁾ aus Staphylokokkenkulturen dargestellten alkohollöslichen Stoffen keine erhebliche Giftwirkung nachweisen können. Daß organische Säuren, wie Ameisen-, Butter-, Baldriansäure, die im Stoffwechsel der Staphylokokken gebildet werden, nicht, wie T e r n i⁴⁾ es will, diese Giftigkeit bedingen können, folgt, abgesehen davon, daß sie hitzebeständig sind, schon aus der geringen Menge, in der sie entwickelt werden. Es unterliegt dagegen keinem Zweifel, daß das Gift wenigstens zum allergrößten Teil durch Alkohol oder Ammonsulfat aus dem Filtrate niedergeschlagen werden kann⁵⁾. Ob es als Ferment (d e C h r i s t m a s) oder Toxalbumin (B r i e g e r und F r ä n k e l⁶⁾) zu bezeichnen wäre, ist aber fraglich. In der Gabe von 0,04 g, in welcher nach v. L i n g e l s h e i m bestenfalls die Alkoholfällung der Bouillonfiltrate Kaninchen von

1) Nach P. Th. M ü l l e r gibt es ferner in den älteren Filtraten (und in den Leibern) der Staphylokokken gewisse Stoffe, die im Knochenmark reichliche Fibrinogenbildung hervorrufen (Sitzungsber. Wien. Akad. 114 u. 115, 1905 u. 1906), und die mindestens von den Leuko- und Hämolysinen verschieden sind.

2) Rech. expér. sur la suppuration. Paris 1888.

3) Province médicale 1891. 481 und Bull. méd. 1892. 84; Semaine médicale 1894. 559.

4) Rivista d'igine 1893 (Baumgartens Jahresber.).

5) Vgl. M. N e i ß e r und L i p s t e i n, Handb. pathog. Mikr. (K o l l e - W a s s e r m a n n) 3. 124, 1903.

6) Berl. klin. Woch. 1890.

krankten sie, wenn sie Stückchen davon erhielten, die einige Zeit in Bouillon oder Milch gelegen hatten. Ihre Organe waren frei von *Proteus*, im Darminhalt ließ er sich nachweisen. 30 ccm einer Bouillonkultur vertrug ein Kaninchen ohne Schaden bei Einführung in den Magen. Ein Extrakt, der aus den Würsten mit leicht angesäuertem Wasser hergestellt war, war umgekehrt für Kaninchen giftig, nicht für Mäuse und Meerschweinchen. *Wesenberg* verfütterte seine aus Fleisch gewonnenen Reinkulturen in Agar oder Milch an Mäuse, ohne mehr als vorübergehende Krankheitserscheinungen zu erzielen. *Meyerohof* hatte gar keine Erfolge bei Verfütterung von Kulturen oder *Proteus*leichen, ebensowenig *Tissier* und *Gasching*¹⁾, die faules Fleisch und stark zersetzte Milch jungen Tieren, aber auch erwachsenen Menschen zur Nahrung gaben²⁾.

Nach alledem ist die Frage, die wir oben aufgeworfen hatten, nicht ganz einfach zu entscheiden. Weder die Gifte des *Proteus* noch die lebenden Bazillen sind für den Darm des Menschen und der Tiere unter allen Umständen schädlich, selbst dann nicht, wenn sie in großen Mengen eingeführt werden. Wenn man ferner die Tatsache erwägt, daß der *Proteus* einer der am weitesten verbreiteten Mikroben ist, der mit allen möglichen Nahrungsmitteln sicher unzählige Male in den Darm des Menschen hineingelangt, so wird man ihn nicht als echten Infektionserreger in Anspruch nehmen können. Vorläufig scheint es am besten unseren bisherigen Erfahrungen zu entsprechen, wenn wir annehmen, daß der *Bac. proteus* nur ausnahmsweise in den nötigen Mengen und mit der nötigen Virulenz behaftet in den Magen aufgenommen wird, um sich, etwa wie die *Cholera*bazillen, im Darm zu vermehren und krankmachende Gifte zu bilden. Ob er auch unter diesen Umständen imstande ist, beim Menschen nicht bloß in die Schleimhaut, sondern in die inneren Organe einzudringen bzw. in ihnen zu wachsen, ist vorläufig sehr fraglich. Bei kleinen Tieren scheint es eher möglich. Die fertigen Gifte des *Proteus* werden wohl niemals unter natürlichen Verhältnissen in solchen Mengen genommen werden, daß sie Krankheit hervorrufen können, weil sie wegen ihrer unangenehmen äußeren Eigenschaften von vornherein zurückgewiesen werden. Sie würden aber auch wohl unschädlich bleiben, weil sie wie die meisten anderen Endotoxine vom Darmepithel nicht aufgenommen werden und die Schleimhaut nicht reizen.

Der von *Jäger*³⁾ als Erreger des sogenannten fieberhaften Ikterus (der *Weilschen* Krankheit) beschriebene *Bac. proteus fluorescens*, der allerdings eine große Ähnlichkeit mit dem gewöhnlichen *Proteus* hat, kann nicht ohne weiteres mit letzterem identifiziert werden.

1) *Annal. Pasteur* 1903. 361.

2) Vgl. auch § 188.

3) *Zeitschr. f. Hyg.* 12, 1892

Mindestens müßte er eine für den Menschen sehr virulente Spielart sein, da er schon in den verhältnismäßig geringen Mengen, die mit dem Trinkwasser oder beim Baden aufgenommen werden können, Krankheit bzw. Infektion erregen soll. C o n r a d i und V o g t ¹⁾ haben sich vergebens bemüht, Gifte in den Organen und Exsudaten der von ihm getöteten Tiere nachzuweisen.

Ebenso ist es nicht wahrscheinlich, daß die gewöhnlichen Fäulnis-erreger die Gifte der sogenannten „Fischvergiftung“ erzeugen, sondern soweit es nicht die gewöhnlichen Bazillen der Fleischvergiftung (§ 287) sind, besondere Krankheitserreger der Fische²⁾.

§ 301. Gifte von Heubazillen, Prodigiosus und anderen Saprophyten. Es spricht alles dafür, daß es auch unter den sonstigen „Saprophyten“ Bakterien gibt, die unter Umständen giftig wirken können. Das hat z. B. W y s s o k o w i t s c h ³⁾ von dem Bac. indicus, E. K l e i n ⁴⁾ von dem Bac. prodigiosus, S o b e r n h e i m ⁵⁾ von dem Bac. subtilis nachgewiesen.

In ziemlich kleinen Mengen, d. h. $\frac{1}{10}$ — $\frac{3}{10}$ Agarkultur in das Blut von Kaninchen oder in das Bauchfell von Mereschweinchen eingespritzt, töten lebende Aufschwemmungen dieser Bazillen die Tiere binnen 24 Stunden unter starker Vermehrung der Bazillen und den Vergiftungserscheinungen, die wir bei der Cholera und dem Typhus kennen gelernt.

Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß auch diese früher für ganz harmlos gehaltenen Bakterien, die gewöhnlich nur tote vegetabilische Substanzen bewohnen, in ihren Leibern ähnliche Gifte bilden, wie die genannten Infektionserreger. Auch S t r e g u l i n a ⁶⁾ kommt mit Heubazillen zu diesem Ergebnis, doch nicht mit allen Varietäten derselben. Das entspricht auch unseren eigenen Erfahrungen. Daß pathogene Heubazillen vorkommen, hat übrigens schon B u c h n e r ⁷⁾ im Jahre 1882 beobachtet: es waren das die bekannten Versuche, die ihn dazu führten, eine Umwandlung des Heubazillus in Milzbrandbazillen anzunehmen. Später haben F l ü g g e und L ü b b e r t ⁸⁾ unter 12 genauer studierten „peptonisierenden Bakterien“ der Milch, d. h. Heu- oder Kartoffelbazillen, drei gefunden, die bei V e r f ü t t e r u n g ihrer Milchkultur an Tiere, namentlich junge, unter heftigen Diarrhöen

1) Ebenda 37, 1901.

2) Vgl. K o n s t a n t o n o f f, Arch. biol. russ. 10 ref. Bull. Pasteur 1904. 871. S. auch H o f e r, Handb. d. Fischkrankheiten, 1904.

3) Zeitschr. f. Hyg. 1, 1886.

4) Zentr. Bakteriolog. 13. 426, 1893.

5) Hygien. Rundschau 1893. 22.

6) Zeitschr. f. Hyg. 51, 1905.

7) N ä g e l i s „niedere Pilze“ 1882. 163.

8) Zeitschr. f. Hyg. 22, 1896.

deren Tod verursachten. Bei einem dieser Bazillen ergab sich weiter, daß schon 1—2 ccm der Milchkultur, die etwa 25 Millionen Keime enthielt, vom Peritoneum aus Meerschweinchen mit Sicherheit töteten. Allerdings waren nur die lebenden Bazillen dazu imstande, nicht die keimfreien Filtrate der Kulturen, auch nicht die durch Chloroform oder Hitze abgetöteten Bazillenleiber. Daß nur ein gegen alle Eingriffe sehr empfindliches Gift in Frage kommen konnte, wurde aber dadurch bewiesen, daß die lebenden Bazillen sich im Körper der Versuchstiere nicht vermehrten.

W e b e r ¹⁾ hat in einer anderen größeren Versuchsreihe nur selten — in 3 von 150 Milchproben — das Vorkommen solcher giftigen Heubazillen bestätigt. Flügge ist jedoch der Ansicht, daß die Sommerdiarrhöe (Cholera nostras) der Säuglinge zum Teil auf derartige Gifte zurückzuführen sei. Die weite Verbreitung der Heubazillen, die unvollkommene Entkeimung der Milch beim Kochen und die hohe Sommertemperatur namentlich der proletarischen Wohnungen erklären das Aufkommen der Heubazillen in der Milch. — Mit den starken Wirkungen des hier beschriebenen Subtilisgiftes hat die Wirkung, die man mit sehr großen Gaben abgetöteter Heubazillen wohl stets erzielen kann, nichts zu tun²⁾. Es handelt sich hier vielmehr um die allen Bakterien zukommenden und gerade bei den gramfesten Bakterien wenig wirksamen Proteine oder Endotoxine (S. 915).

Für den *Prodigosus* hat Bertarelli³⁾ den Beweis der Giftigkeit genauer geführt. Filtrate sind auch hier nur in großen Gaben und wenn sie von alten Kulturen stammen, giftig, so töteten 6—10 ccm 10tägiger Kulturen des *Prodigosus* in Bouillon von der Bauchhöhle aus Meerschweinchen von 300 g in einem Tage. Die abgetöteten Bakterienleiber sind dagegen schon in Gaben von 1 mg wirksam. Nimmt man an, daß damit das Trockengewicht gemeint ist, so kommen wir zu nur wenig niedrigeren tödlichen Gaben beim *Prodigosus* wie beim „primären“ Cholera- und Typhusendotoxin. Nicht mit diesem starken Gift zu verwechseln ist das „Kernproteid“, das Bertarelli selbst durch Ausziehen der Bakterienleiber mit 1prozentiger Sodalösung in der Kälte und Fällung mit Essigsäure erhalten hat, und das erst in sehr viel höheren Gaben — genauere Angaben fehlen — tötet. Man könnte es dem „sekundären“ Endotoxin R. Pfeiffers, dem Bakterienprotein Buchners und dem Pyrotoxin Centannis an die Seite stellen. Mit Vorliebe hat man gerade den *Bac. prodigosus* zur Herstellung derartiger Präparate gewählt, aber freilich die ursprüngliche Giftigkeit sehr herabgesetzt gefunden (§ 280). V o g e s ⁴⁾ erzielte bei einem Meerschweinchen von 250 g, dem er 300 mg

1) Arb. d. k. Gesundheitsamts 17, 1900.

2) V o g e s, Zeitschr. f. Hyg. 17. 475; vgl. aber Spiegelberg, Jahrb. f. Kinderheilkunde 49.

3) Zentr. Bakt. 34. 3/4, 1903.

4) Zeitschr. f. Hyg. 17. 480, 1894.

eines nach *Centanni* hergestellten trockenen *Prodigiosus*pyrotoxins in den Bauch spritzte, sehr starken Temperaturabfall. Doch erholte sich das Tier wieder von dem Kollaps. Es wäre also das sekundäre *Prodigiosus*gift mindestens 300mal weniger wirksam als das primäre. Auf tuberkulöse Tiere wirkt das Protein des *Prodigiosus* allerdings schon in einer etwas geringeren Gabe (160 mg Trockensubstanz) tödlich¹⁾.

Die filtrierten und noch mehr die nichtfiltrierten *Prodigiosus*kulturen besitzen nach *Bertarelli* auch hämolytisches Vermögen (§ 312).

Über die Gifte anderer nicht oder selten pathogener Bakterien wurden einige Erfahrungen bei Besprechung der Bakterienproteine mitgeteilt (§ 280). Wenn man übrigens mit der Gabe hoch genug steigt, so kann man mit allen Bakterienleibern schließlich den Tod der Versuchstiere erzielen.

§ 302. Influenzagift. Obwohl die Influenza eine nur selten tödliche Krankheit ist, sind die Vergiftungserscheinungen bei ihr stark ausgesprochen. Nach *R. Pfeiffer* und *Beck*²⁾ lassen sie sich bei einigen Tierarten wie Affen und Kaninchen wiedererzeugen.

Spritzt man ihnen die Aufschwemmung nur einer Agarkultur, entsprechend einigen Milligrammen feuchter Bazillen, durch die Brustwand in die Lunge ein, so zeigen sie tagelang Fieber, ebenso beim Aufstreichen der Kultur auf die Nasenschleimhaut. Drei Agarkulturen vermochten sogar, in die Luftröhre eingebracht, einen Affen zu töten. Die Temperatur stieg zunächst und fiel dann auf 32°, wo dann der Tod unter starkem Kräfteverfall eintrat. Die Bazillen erwiesen sich dabei fast sämtlich als abgestorben, hatten also durch ihre Gifte gewirkt. Kaninchen kann man vom Blut aus durch die gleiche Kulturmenge vergiften; die Tiere zeigen Temperaturanstieg und eine höchst charakteristische Muskelschwäche. Das Ergebnis bleibt dasselbe, wenn man nicht lebende, sondern durch Chloroform oder Erhitzung auf 57° abgetötete Bazillen verwendet. Bei Einbringung in das Gehirn nach Trepanation des Schädels (vgl. das Verfahren S. 965) ist die Wirkung besonders kräftig, so sterben nach *Cantani*³⁾ große Kaninchen bei dieser Art der Einverleibung an 3—6 mg der feuchten Bakteriensubstanz binnen 1—3 Tagen unter Lähmungserscheinungen. Bei kleineren Gaben pflegen sie sehr stark abzumagern. Andere Tiere sind weniger empfänglich. Doch kann man nach *Delius* und *Kolle*⁴⁾ Meerschweinchen von 200 g von der Bauchhöhle aus mit 10 mg bei 56° abgetöteter frischer Bazillenleiber⁵⁾ binnen 24 Stunden töten. Die Gabe ist annähernd die gleiche wie bei den Typhus- und Cholera-bazillen. Das Gift wird aber auch in reichlichen Mengen in flüssige Nährböden abgeschieden. So führten 8 ccm einer filtrierten 3—8tägigen Blutbouillon⁶⁾ und 5 ccm der nicht filtrierten, sondern 2 Stunden bei 56° sterili-

1) *Buchner*, Münch. med. Woch. 1891. 49.

2) *Zeitschr. f. Hyg.* 13, 1898.

3) *Ebenda* 23, 1896.

4) *Zeitschr. f. Hyg.* 24, 1897.

5) Von Agar, der mit Taubenblut gemischt, nicht bestrichen war.

6) 50 ccm Bouillon mit 0,2—0,5 ccm defibrinierten Taubenbluts gemischt wird zum Gefrieren gebracht und nach einigen Stunden wieder aufgetaut.

sierten Bouillon den Tod herbei. Bei der leichten Zerstörbarkeit der Bazillen (durch Selbstverdauung?) wird man das Influenzagift aber dennoch als ein Leibesgift auffassen dürfen, das freilich bei empfänglichen Tieren besondere Eigenschaften entwickelt. Ältere 14tägige Kulturen sind weniger giftig, vielleicht weil das Gift durch den Luftsauerstoff allmählich zerstört wird. In der Giftigkeit der einzelnen Kulturstämme bestehen große Unterschiede. Es wäre wichtig, zu wissen, ob man auch mit den z. B. bei Masern, Keuchhusten usw. weit verbreiteten sogenannten *Pseudoinfluenzabazillen*, d. h. hämoglobinophilen Bakterien, die bisher durch kein durchgreifendes Merkmal von den echten Influenzabazillen zu trennen sind, ähnliche Vergiftungen erzeugen kann.

Eine gewisse Gewöhnung gegen das Gift der Influenzabazillen tritt bei Behandlung von Tieren ein, ihr Serum besitzt aber nach Delius und Kollé nicht eine Spur von Schutzkraft.

§ 303. **Keuchhustengift.** Die Allgemeinerscheinungen beim Keuchhusten sind weniger ausgeprägt. Nach Bordet und Gengou¹⁾ besitzen aber die von ihnen gefundenen Bazillen ziemlich starke Giftigkeit. Man gewinnt das Gift nicht in Filtraten, sondern als „Endotoxin“ nach dem Verfahren Besredkas (S. 938) durch Trocknen und Verreiben der Leiber mit Kochsalz. Etwa $\frac{1}{8}$ des Rasens von einer Blutagarkultur genügt, um Meerschweinchen von der Bauchhöhle — etwa $\frac{1}{2}$ — um Kaninchen von der Blutbahn aus in 24 Stunden zu töten. Die örtlichen Erscheinungen beim Meerschweinchen bestehen in einem hartnäckigen, in Nekrose ausgehenden hämorrhagischen Ödem. Auch im Kehlkopf des Meerschweinchens sollen ähnliche Prozesse vorkommen. Die Herstellung eines antitoxischen Immunserums gelang nicht.

§ 304. **Tuberkelgift.** Über das Gift oder die Gifte der *Tuberkelbazillen* ist zwar viel gearbeitet, aber noch kein völliges Einverständnis erzielt worden. Soviel scheint allerdings sicher, daß das Gift den Bazillen sehr fest anhaftet und nur durch eingreifende Mittel in größeren Mengen von ihnen getrennt werden kann, also ein „Endotoxin“ ist.

Immerhin sind Spuren giftiger Wirkung auch in den Filtraten von alten Bouillonkulturen mehrfach gefunden worden. So spricht Pansini²⁾ dem Kulturfiltrat eine gleiche, aber viel schwächere Wirkung zu wie den Bazillen selbst. Maragliano³⁾ hat durch vorsichtige Eindickung der Filtrate hitzeempfindliche „Toxalbumine“ erhalten, die Meerschweinchen töten. Ledoux-Lebard⁴⁾ möchte allerdings die geringe Giftwirkung (Fieber), die auch er beobachtete, auf die Bestand-

1) Annal. Pasteur 1909. 5.

2) Baumgartens Jahresber. 1894. 699.

3) Berl. klin. Woch. 1896. 35.

4) Arch. expér. méd. 1898. 601.

teile des Nährbodens selbst zurückführen. Es ist ja klar, daß diese bei stärkerer Konzentration nicht gleichgültig sind. Doch bestehen B e s a n - ç o n und G o u g e t ¹⁾, sowie F r e n k e l und B r o n s t e i n ²⁾ auf der spezifischen Wirkung des Toxalbumins³⁾. Auch B é r a n e c k ⁴⁾ unterscheidet ein „Basitoxin“, das er durch vorsichtiges Einengen des Filtrats möglichst alkalischer Bouillonkulturen erhielt, von dem „Azidotoxin“, einem phosphorsauren Auszug der Bazillenleiber. Ebenso gelang es R u p - p e l ⁵⁾ in seiner gründlichen Arbeit zur Chemie der Tuberkelbazillen (vgl. S. 68), aus dem Filtrat von 50 Liter Bouillonkultur, nachdem er sie im Vakuum bei 30—40° auf den 20. Teil eingengt hatte, auf zwei Wegen wirksame Gifte zu gewinnen. Entweder versetzte er allmählich mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols, ließ den Niederschlag absetzen, wusch ihn mit 60% etwas kochsalzhaltigen Alkohols, schließlich mit absolutem Alkohol, sammelte auf einer Nutsche vermittelst der Saugpumpe und trocknete im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure. Oder er begann damit, die eingengte Kultur vier Tage lang gegen strömendes Wasser zu dialysieren, engte dann wieder auf den 20. Teil ein und fällte mit absolutem Alkohol unter Zusatz von etwas Kochsalz und Salzsäure. Die besten Präparate bestehen zum großen Teil aus Deuteroalbumose, sie werden in einer Menge von 5 bzw. 4 g aus dem Liter Kultur gewonnen und sind nach B e h r i n g (s. u.) annähernd so giftig wie die aus den Bazillen selbst hergestellten Körper. Aber um gesunde Meerschweinchen zu töten, würde man freilich von dem ursprünglichen Filtrat ganz riesiger Mengen bedürfen. Leider sagt R u p p e l nichts über die Widerstandsfähigkeit seines Filtratgiftes gegen Erhitzung. Daß durch die letztere gewisse Veränderungen in dem Tuberkelbazillenfiltrat gesetzt werden, ist wohl sicher (S p e n g - l e r ⁶⁾), aber gerade die giftigen Bestandteile könnten dabei weniger leiden, als die immunisierenden. Wenigstens beruht auf dieser zunächst zweifelhaften Annahme die Darstellung der zu Heilzwecken dienenden Tuberkelpräparate nach D e n y s ⁷⁾, S p e n g l e r ⁸⁾, L a n d m a n n (s. u.).

Daß die Leiber der Tuberkelbazillen giftig sind, folgt zunächst schon aus den zahlreichen Versuchen, die mit durch Kochen abgetöteten Bazillen gemacht worden sind⁹⁾. Nach Einspritzung größerer Mengen ins Blut oder in die Trachea entwickelt sich eine Art von Miliartuberkulose, die sich von der echten wesentlich nur durch die mangelnde Übertragbarkeit unterscheidet. Bei subkutaner Einverleibung toter Ba-

1) Ebenda 1901. 861.

2) Compt. rend. soc. biol. 1899, 521.

3) Vgl. unten L a n d m a n n; ferner K ö p p e n, Zeitschr. f. Hyg. 52, 1905.

4) Compt. rend. ac. sc. 137. 889, 1903.

5) Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 1899.

6) Festschrift für K o c h 1903.

7) Le bouillon filtré du bacille de la tuberculose etc. Paris 1905.

8) Zeitschr. f. Hyg. 26, 1897; Deutsch. med. Woch. 1905. 31 und 34.

9) W y s s o k o w i t s c h, Mitteil. aus B r e h m e r s Heilanstalt 1890; P r u d d e n, New-York med. Journ. 1890; S t r a u s und G a m a - l e i a, Arch. expér. med. 1891; A b e l, Deutsch. med. Woch. 1892. 22. K o s t a n i t s c h, Arch. expér. méd. 1893; M a s u r u. K o c k e l, Zieglers Beitr. 16.

zillen bekommt man hauptsächlich starke entzündungserregende und in gewissem Grade gewebstötende Eigenschaften zu sehen; es entwickelt sich ein fibröser oder fibrös-käsiger Knoten. Daneben treten aber auch allgemeine Vergiftungssymptome auf, wie Fieber, Abmagerung und Entartung der Unterleibsorgane, die bei Einverleibung größerer Mengen zum Tode führen¹⁾. Wir haben hier also ganz ähnliche Erscheinungen wie bei dem Infektionstode. Was die Größe der tödlichen Gaben anlangt, so töten nach Aronson²⁾ z. B. getrocknete und entfettete Tuberkelbazillen, bei 110° abgetötet, in einer Menge von 10—30 mg Meerschweinchen von mittlerer Größe in 3—6 Wochen, nach Frenkel und Bronstein in einer Menge von 100 bis 200 mg in 5 Tagen. Nicht unwichtig ist, daß Hühner für tote Tuberkelbazillen vom Menschen empfänglicher sind als für ihre eigenen, und daß lebende Bazillen weniger schnell ihre Giftwirkung entfalten, als die gleiche Gabe abgetöteter (Pansini). Die letztere Tatsache erklärt sich wohl aus der leichteren Resorbierbarkeit der getöteten Bakterien, die erstere wird verständlich, wenn wir die riesigen Mengen von Bazillen, die sich im infizierten Huhn finden, mit den viel kleineren, die sich im infizierten Menschen finden, vergleichen. Im Blute von Meerschweinchen entfalten übrigens auch lebende Bazillen sehr große Giftigkeit; sie töten in Gaben von 5—10 mg in 6—8 Tagen, wahrscheinlich weil sie hier schneller aufgelöst werden (s. u.).

Auf die verschiedenste Weise ist es gelungen, die Leibesgifte aus den Bazillen auszuziehen. Der erste Versuch dazu stammt von Robert Koch³⁾. Sein „altes“ Tuberkulin wird hergestellt aus Kulturen auf 4prozentiger Glyzerinbouillon, die nach 6—8 Wochen bei 90° auf den zehnten Teil ihres Volumens eingedampft und durch Porzellan filtriert wird. Das Glyzerin dient dabei gleichzeitig als Extraktions- und Konservierungsmittel. Das Tuberkulin ist für tuberkulöse Tiere und Menschen stark, für gesunde viel weniger giftig⁴⁾. Wir haben hier den ersten, allerdings in mancher Beziehung eigentümlichen Fall von sogenannter Überempfindlichkeit gegen Bakteriengifte vor uns (vgl. § 344 und Immunitätslehre). Die Empfänglichkeit der einzelnen Tiere ist verschieden groß, am größten beim Menschen. Hier erzeugen schon 0,025 ccm beim Gesunden kräftige örtliche und allgemeine Wirkungen (Fieber), während beim Tuberkulösen wenige Milligramme und Bruchteile von einem Milligramm genügen, ja selbst die Impfung mit der Lanzette in die Haut oder die Einträufelung in die Bindehaut noch sichtbare Reaktionen veranlassen. Bei großen Haustieren sind weit erheblichere Gaben nötig, um selbst beim Vorhandensein von Tuberkulose Reaktionen zu erzeugen. Wir gehen auf diese für die Dia-

1) Maffucci, Baumgartens Jahresber. 1892. 692; Héricourt und Richet, Semaine méd. 1891. 14; Pansini a. a. O.

2) Berl. klin. Woch. 1898. 22.

3) Deutsch. med. Woch. 1890. 46a; ebenda 1891. 3 und besonders 43; vgl. auch Dönitz, Klin. Jahrb. 7. 225, 1898.

4) Die geringe Giftigkeit des Tuberkulins für Gesunde kann man namentlich am Säugling beobachten, da bei diesem ja auch die latenten Infektionen fehlen (Schloßmann und Binswanger, Arch. f. Kinderheilk. 43, 1906).

gnose der tuberkulösen Erkrankung äußerst wichtigen Verhältnisse hier nicht weiter ein, ebensowenig auf die Heil- und Schutzversuche mit Tuberkulin, die bald mit der „Reaktion“ in Verbindung gebracht werden, bald auf echte immunisierende Einflüsse bezogen werden.

Gesunde Meerschweinchen vertragen von der Haut oder der Bauchhöhle aus mehrere Kubikzentimeter ohne erheblichen Schaden und erliegen erst bei Gaben von 10—15 ccm, sterben dagegen, wenn sie tuberkulös sind, an 0,5 cm binnen 24 Stunden unter starkem Temperaturabfall und örtlicher Reaktion an der tuberkulösen Stelle. Koch hat aus dem rohen Tuberkulin (s. o.) durch mehrmalige Ausfällung mit 60 prozentigem Alkohol ein reineres hergestellt, das viel giftiger ist, aber dennoch nicht als reines Gift betrachtet werden kann. Es gibt alle Eiweißreaktionen und steht den Albumosen und Peptonen am nächsten, unterscheidet sich aber von den ersteren durch seine Beständigkeit gegenüber langdauernder Anwendung höherer Temperaturen (120°) und seine leichtere Dialysierbarkeit, von den Peptonen durch seine Fällbarkeit durch Eisenazetat. Bemerkenswert ist, daß wässrige Lösungen ihre Wirksamkeit bald einbüßen. Ein Zusatz von Glyzerin (5%) macht sie haltbarer. W. Kühne¹⁾ hat nachgewiesen, daß die aus dem Tuberkulin isolierten Albuminate, Albumosen und Peptone zum größten Teil oder ganz dem Nährboden entstammen, zum Teil aus ihm auch durch die angreifende Behandlung abgespaltet sein können. Der oder die wirksamen Stoffe sind wohl nur den Eiweißkörpern beigemengt. Ganz ähnlich wirkende Präparate haben Maragliano, Helman²⁾ u. a. durch Auskochen der Bazillen mit Wasser hergestellt, sie sollen nach Frenkel und Bronstein giftiger als das Kochsche Tuberkulin, aber wegen des fehlenden Glyzerins weniger haltbar sein. Auch durch $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge kann man nach Koch³⁾ aus den Tuberkelbazillen ein tuberkulinähnliches, aber schwer filtrierbares Gift ausziehen⁴⁾. Wirksame Stoffe gewann er aber auch, wenn er die schützende Fetthülle der Bazillen durch scharfes Trocknen und Zerreiben der lebenden Bazillen zerriß, so daß ihr Leibesinhalt mit dem Lösungsmittel in unmittelbare Berührung kommen konnte. Die wasserlöslichen Bestandteile, die etwa 50% der Bazillenkörper ausmachen, nennt er TO, die unlöslichen TR. v. Lingelsheim⁵⁾ hat die Giftigkeit aller dieser Präparate genauer zu dosieren versucht, und zwar dadurch, daß er sie in einer physiologischen Kochsalzlösung (0,2 ccm) Meerschweinchen unter die harte Hirnhaut einspritzte (vgl. S. 965). Für gesunde Meerschweinchen von etwa 250 g erwiesen sich so binnen 24 Stunden als tödlich

1) Zeitschr. f. Biol. 30, 1893.

2) Arch. biolog. Petersbourg 1. 139, 1892 (benutzt Kartoffelkulturen und erhält dadurch ein sehr eiweißarmes Tuberkulin).

3) Deutsch. med. Woch. 1897. 14.

4) Durch Ausziehen mit warmer verdünnter Natronlauge gewann schon Weyl (Deutsch. med. Woch. 1891) ein „Toxomuzin“, das bei Mäusen örtliche Nekrosen erzeugte.

5) Deutsch. med. Woch. 1898. 37.

TO 1 mg Trockengewicht, TR 3 mg; TO + TR (die getrockneten und zerriebenen Bazillen) 2 mg;
 Rohtuberkulin (Alkoholfällung) 4,4 mg¹⁾;
 Rohtuberkulin in Lösung 0,022 ccm.

Bei subkutaner oder intraperitonealer Einverleibung mußten etwa 180 mal so große Gaben verwendet werden, um die Tiere schnell zu töten, wir kommen also für die getrockneten und zerriebenen Tuberkelbazillen auf etwa 220 mg als akut tödliche Gabe. Sie sind danach ungefähr ebenso giftig, wie die entfetteten Bazillen nach Frenkel und Bronstein (s. o.) und Cantacuzène²⁾. Die Gabe dieser Gifte, die tuberkulöse Meerschweinchen tötete, war etwa 100 mal kleiner (s. u. Behring).

Statt die Bazillen nach dem Vorgange von Koch trocken zu zerreiben, kann man sie auch nach H. Buchner und Hahn³⁾ im feuchten Zustand zerkleinern und auspressen: der so gewonnene Preßsaft, das „Tuberkuloplasmin“, soll übrigens nach Landmann⁴⁾ nur einen kleinen Teil des Tuberkelgiftes enthalten. Dieser Autor selbst ist zu sehr wirksamen Giften dadurch gelangt, daß er die Bazillen nach-

1) Nach Neufeld (Deutsch. med. Woch. 1899.13) wäre die Lingelsheimsche Zahl für das Tuberkulin nicht richtig. Selbst 0,1 ccm Rohtuberkulin erwies sich als ungiftig bei Einspritzung ins Gehirn. Der Niederschlag, der aus Alkohol absolutus aus Tuberkulin erhalten wird und nach Neufeld und Koch nur 10%, nicht 20% des Tuberkulins (v. Lingelsheim - Behring) ausmachen soll, tötete zwar in einer Menge von 0,03 g (entsprechend 0,3 ccm Tuberkulin), aber ebenso giftig war der Alkoholniederschlag aus einer zehnmal konzentrierten ungeimpften Peptonbouillon. Ebenso wenig spezifisch war die Giftwirkung des durch Fällung mit 60prozentigem Alkohol aus Rohtuberkulin gewonnenen Reintuberkulins (1,8% des Rohtuberkulins). Das Tuberkulosamin Ruppels (s. u. S. 982) war bei dieser Art der Einverleibung sogar weniger giftig als ein aus Lachssperma dargestelltes Protamin (0,005 : 0,002 g). Interessant ist auch, daß selbst anorganischen Salzen wie Natrium- und Ammoniumsulfat, Chlorammon und Kaliumphosphat (in 1—2% Lösung) eine starke Giftwirkung zukommen soll, wenn sie zu 1—2 mg ins Gehirn gespritzt werden. Nur Kochsalz war weniger giftig, 20 mg töteten nicht. Die Giftprüfungsmethode muß also sehr vorsichtig gehandhabt werden, wenn sie einwandfrei sein soll. Das Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt hat dagegen mit dem von Koch, Dönitz (Klin. Jahrb. 7. 1898) und Otto (ebenda 13, 1904) ausgebildeten Prüfungsverfahren bessere Ergebnisse erzielt. Meerschweinchen von etwa 400 g, die 4 bis 5 Wochen vorher mit 0,5 mg frischer Tuberkelbazillen subkutan infiziert waren und schon eine deutliche Gewichtsabnahme zeigten, erhalten 0,05—0,3 ccm Tuberkulin subkutan eingespritzt. Durchschnittlich genügen 0,1—0,25 ccm, um den Tod binnen 24 Stunden herbeizuführen. Der Vergleich mit einem Muster-Tuberkulin schützt vor zufälligen Schwankungen, die durch verschiedene Virulenz der Kultur u. a. hervorgerufen werden.

2) Annal. Pasteur 1905. 11.

3) Münch. med. Woch. 1897.

4) Hygien. Rundschau 1900. 363.

einander bei verschiedenen Temperaturen (40—100°) auszog, die Extrakte vereinigte und bei 37° im Vakuum eindampfte. Meist genügten schon 0,1 ccm dieser konzentrierten Flüssigkeit, um gesunde Meerschweinchen zu töten. Die ebenfalls bei niedriger Temperatur eingeeengte Bouillon, auf der die Tuberkelbazillen gewachsen waren, setzt **Landmann** dazu, filtriert durch Tonkerzen, versetzt mit 0,5% Karbolsäure und erhält so ein „Tuberkulol“, das alle von den Tuberkelbazillen etwa gebildeten wasserlöslichen Gifte enthält und schon in Gaben von 1 ccm tötet. Daß hierunter auch Giftstoffe sind, die durch höhere Temperaturen geschädigt werden, folgt aus der Abnahme der Giftigkeit, die die Flüssigkeit beim Kochen erleidet. Wie alle wässerigen Lösungen des Tuberkelgiftes, büßt auch das Tuberkulol beim Stehen an Wirksamkeit ein. Der ausgezogene Rest der Bazillenleiber soll ungiftig sein.

Marmorek¹⁾ stellt ein lösliches Tuberkelbazillengift in einer ganz anderen eigentümlichen Weise her. Er ging von dem Gedanken aus, das Tuberkulin sei nicht das eigentliche Gift der Tuberkulinbazillen, sondern rege diese, und zwar nur, wenn sie sich im Jugendzustande im Tierkörper befinden, zur Produktion ihres Giftes an. Um es außerhalb des Tierkörpers zu gewinnen, setzte er sich nach verschiedenen fehlgeschlagenen Versuchen folgenden Nährboden zusammen: ein leukotoxisches Serum, erhalten durch Behandlung von Kälbern mit Leukozyten des Meerschweinchens, wird mit glyzerinhaltiger Leberbouillon vermischt. Die Tuberkelbazillen gewöhnen sich erst allmählich an diesen Nährboden, wachsen dann aber schließlich darin und erhalten sich lange im „primitiven“, d. h. jugendlichen Zustand. Dabei scheiden sie ein Gift aus, das mit dem Tuberkulin nichts zu tun haben soll. 5—10 ccm des Filtrates töten Kaninchen und Meerschweinchen von der Haut aus binnen 8 Tagen, und zwar gesunde Tiere eher als tuberkulöse. Beim Pferde erzeugt das Gift schmerzhaftes Schwellen und Temperatursteigerung, schließlich aber Immunität. Das Serum der so behandelten Pferde enthält ein Antitoxin, mit dem die Heilung von tuberkulösen Tieren und Menschen gelingen soll.

Die große Beständigkeit der Tuberkelbazillengifte gegen die Siedehitze bedingt noch nicht seine Widerstandsfähigkeit gegen andere Einflüsse. Daß es von selbst seine Wirksamkeit verlieren kann, haben wir schon mehrfach bemerkt. Schnell gelingt es, die Bazillen wenigstens für Meerschweinchen unschädlich zu machen, dadurch daß man sie der Einwirkung des Chlors unterwirft. Die immunisierenden Stoffe sollen dabei nicht geschädigt werden (**Moussu** und **Goupil**²⁾).

Während alle bisher genannten „Tuberkuline“ verwickelte Gemische darstellen, haben mehrere Forscher versucht, daraus die wirksamen Stoffe zu gewinnen. Wir haben von den Methoden schon früher gesprochen (S. 68 ff. u. 74 ff.). Fast alle Präparate sind giftig, in kleinen Mengen allerdings nur, wenn sie in das Gehirn oder das Blut eingespritzt werden. Nach **Behring**³⁾ tötet 1 g der Tuberkulinsäure **Ruppels** besonders auf dem ersten Wege 90 000 g Meerschweinchen, von der Haut aus nur 600 g. Die entsprechenden Zahlen für tuberkulöse Meerschweinchen sind sogar 40 000 000 und 60 000, also 150—100 mal größer. Die Tuberkulinsäure ist

1) Berl. klin. Woch. 1903. 48.

2) Compt. rend. ac. sc. 6. und 23. XII. 1907.

3) Berl. klin. Woch. 1899. 28.

sonach ebenso giftig wie das Präparat TR nach v. Lingelsheim (s. o. S. 982). Beim Vergleich der verschiedenen Tuberkulosepräparate an tuberkulösen Rindern, einer Methode der Giftbestimmung, die freilich höchstens annähernde Resultate geben kann, findet Behring etwas abweichende Werte. Es entsprechen nämlich im Trockengewicht:

1 Teil TR („Neutuberkulin“ Kochs s. o.)	2	Teilen Alttuberkulin (Alkoholniederschlag)
1 „ durch verdünnten Alkohol gereinigten Alttuberkulins	4—6	„
1 „ entfettete und zerkleinerte Bazillen	3 ½—4 ½	„
1 „ getrocknete und zerkleinerte Bazillen	4—5	„
1 „ dialysiertes Kulturfiltrat Ruppel	3—4	„
1 „ Glyzerinextrakt der ganzen Bazillen (Ruppel)	2 ½—3	„
1 „ Nukleinsubstanz der zerriebenen Bazillen (Ruppel)	3 ½—4 ½	„
1 „ Tuberkulinsäure (Ruppel) . . .	3 ½—4	„
1 „ Tuberkulosamin (Ruppel) . . .	3—3 ½	„

Dazu kommen noch die von Ruppel und Kitashima durch Spaltung der Tuberkulinsäure erhaltenen Tuberkulothyminsäure und das kristallisierte Tuberkulosin, von dem 1 g so giftig ist wie 20 bis 30 cem Tuberkulin, d. h. auf den Alkoholniederschlag berechnet ungefähr ebenso wirksam wie die anderen Präparate. Die Unterschiede sind also trotz der abweichenden Wirkung der Gifte, wenn man von dem Roh-tuberkulin, das viele Bacterien des Nährbodens beigemennt enthält und durch das anhaltend die Wirksamkeit verloren hat, absieht, nicht sehr erheblich. Die Tuberkulinsäure soll aber nach Behring dadurch Vorteil bieten, daß ihre wässrige Lösung nicht so schnell ihre Wirksamkeit einbüßt.

Das „Nuklein“ de Giasa tötet, obwohl unlöslich in Wasser und Kochsalzlösung, schon in Gaben von 1 auf 10 000—50 000 Hunde, Kaninchen und Meerschweinchen, wenn es in feiner Aufschwemmung in die Venen gespritzt wird¹⁾. Der Tod kann sogar ganz plötzlich eintreten und erfolgt dann durch Koagulation des Blutes, sonst unter Bildung von hämorrhagischen oder nekrotischen Herden. Einige Zentigramme genügen, um von der Haut, dem Bauchfell, der Luftröhre und den Lungen aus starke entzündliche Veränderungen und Nekrosen zu bewirken²⁾. Das gleichzeitig dargestellte „Nukleoproteid“ de Giasa besaß merkwürdigerweise keine erhebliche Giftigkeit. Dagegen erzeugte der Alkohol- und Ätherextrakt unter der Haut Entzündung und Verschwärung ohne Allgemeinerscheinungen. Nach de Giasa ist diese Substanz stickstoffhaltig, sie ist aber

1) Eine so starke Giftwirkung der Tuberkelbazillen hat sonst nur Bail (Wien. klin. Woch. 1905. 46) beobachtet. Bei intravenöser Einverleibung genügten 5—10 mg (lebender) Bazillen, um Meerschweinchen binnen 8 Tagen unter dem Bilde einer Kachexie ohne Tuberkelbildung zu töten. Die gleiche und selbst 10fache Gabe wurde intraperitoneal vertragen.

2) Die tödliche Gabe ist leider nicht angegeben.

völlig unlöslich in Wasser und wird aus der alkoholischen Lösung durch Säuren mit der Fettsäure ausgeschieden. Schon H a m m e r s c h l a g (S. 74) hatte die Giftigkeit des Tuberkelbazillenfettes behauptet. Allerdings löste er das Gift aus dem Alkoholextrakt durch verdünnten heißen Alkohol oder kochendes Wasser. Nach A u c l a i r ¹⁾ unterscheidet sich der Ätherextrakt der Tuberkelbazillen in seinen Wirkungen von dem Alkoholextrakt. Der erstere erzeugt käsige Prozesse, der letztere fibröse. Ein neuerdings von A u c l a i r und P a r i s ²⁾ aus entfetteten Tuberkelbazillen durch Ausziehen mit konzentrierter Essigsäure bei 80° hergestelltes „Bazillenkasein“ erzeugt nur lymphatische, später resorbierbare Knoten, daneben allgemeine Abmagerung und Dyspnoe durch lymphatische Infiltration der Lungen.

Den Befund einer wasser- und ätherlöslichen giftigen Fettsäure (Terakonsäure d e S c h w e i n i t z) in Tuberkelbazillenkulturen haben wir schon S. 822 erwähnt, ebenso das D e y c k e s c h e Tuberkulonastin. Durch Ausziehen der entfetteten Tuberkelbazillen mit Lezithin (Tb.-L) bzw. Äthylamin (Tb.-A) erhielten D e y c k e und M u c h ³⁾ ungiftige (aber immunisierende) Präparate.

Schließlich wurden auch öfter Erfahrungen gemacht, die dafür zu sprechen scheinen, daß die E x s u d a t e t u b e r k u l ö s e r T i e r e Gift enthalten. Da es sich immer um chronische Vergiftungen und große Mengen körperfremder Flüssigkeiten handelt, ist eine Deutung schwierig.

Aus allen diesen Angaben erhellt, daß die Giftwirkungen der Tuberkelbazillen fast allen aus seinem Leibe~ ausgezogenen oder freiwillig von ihm abgegebenen Stoffen anhaften und nach kleineren Gaben bestehen in Entzündung, Fieber, Abmagerung; in großen in Kollaps und schnellem Tod. Das sind im wesentlichen die gleichen Erscheinungen, die wir auch bei anderen Leibesgiften beobachten können. Nur kommen bei den Tuberkelbazillen doch noch einige Eigenschaften hinzu, die sich bei anderen Bakterien lange nicht so ausgesprochen finden: in erster Linie die von allen Forschern beobachtete s c h w i e r i g e D a r s t e l l b a r k e i t d e r E n d o t o x i n e. Ihr entspricht die weit langsamere R e s o r b i e r b a r k e i t d e r t o t e n B a z i l l e n k ö r p e r; beides erklärt sich sehr wahrscheinlich aus dem starken Gehalt an F e t t - (W a c h s -) S t o f f e n, der, wie wir gesehen, ein Drittel vom Gewicht und mehr ausmachen kann (S. 74). Die Tuberkelbazillen müssen also im lebenden Gewebe als dauernde Fremdkörper wirken, daraus entspringen denn wohl die reaktiven Wachstumsvorgänge im Gewebe (Knötchenbildung), die gerade die Tuberkulose auszeichnen. Daneben läßt sich nicht leugnen, daß der durch das Tuberkelgift gesetzte Reiz häufiger als bei anderen Bakteriengiften A b s t e r b e n des Gewebes bedingt (vgl. § 332). In diesem beschränkten Sinne dürfte

1) Arch. méd. expérim. 1899 und 1900.

2) Compt. rend. ac. sc. 146. 301, 1908 und Arch. méd. experim. 1908.

3) Mediz. Klin. 1908. 40.

man also schon von einer spezifischen Wirkung der Tuberkelbazillen sprechen. Noch deutlicher tritt deren Spezifität hervor in der sog. Tuberkulinreaktion, d. h. der Überempfindlichkeit tuberkulöser Tiere gegen Einverleibung des Tuberkelgiftes.

Freilich ist sie keine unbedingte, denn man weiß durch R ö m e r, B u c h n e r, M a t t h e s, K r e h l und M a t t h e s, daß die gleiche Reaktion durch Verabreichung anderer Bakterienextrakte und nicht bakteriellen Eiweißes (Albumosen, Peptone, Nukleinsäuren) erhalten wird (§ 280). Immerhin zeigt ein Vergleich der Mengen, die dazu nötig sind, daß das Gift der Tuberkelbazillen auf tuberkulöse Individuen sehr viel kräftiger wirkt. Es werden tuberkulöse Meerschweinchen getötet bei subkutaner Einspritzung durch

Deuteroalbumose (M a t t h e s)	100 mg	Trockengewicht
reines Pepton (M a t t h e s)	10 „	„
Pyocyaneusprotein (R ö m e r, B u c h n e r)	120 „	„
Prodigosusprotein (B u c h n e r).	160 „	„
Pneumobazillenextrakt (R ö m e r)	120 „	„
mit Pepsinsalzsäure verdaute Colibazillen (K r e h l und M a t t h e s)	30 „	„
K o s s e l s c h e N u k l e i n s ä u r e (B e h r i n g).	400 „	„
K o c h s R o h t u b e r k u l i n (Alkoholnieder- schlag)	10—30 „	„
R u p p e l s T u b e r k u l i n s ä u r e (B e h r i n g)	4 „	„

Nur das reine Pepton und das Verdauungspräparat aus Colibazillen können es also mit dem Tuberkulin aufnehmen, aber auch sie stehen noch erheblich hinter dem gereinigten Tuberkelgift zurück. Wahrscheinlich weit größer sind die Unterschiede, die sich bei Prüfung dieser Stoffe am tuberkulösen Menschen ergeben. Vor allem aber ist die Wirkung der nicht von Tuberkelbazillen abstammenden Stoffe bei gesunden Tieren nur wenig geringer als bei tuberkulösen. Es fehlt also das Hauptmerkmal der Überempfindlichkeit.

Die einzelnen aus den Tuberkelbazillen dargestellten Giftpräparate sollen sich nach manchen Forschern (M a r a g l i a n o) durch ihre Wirkungen voneinander unterscheiden. Nach den B e h r i n g s c h e n Mitteilungen ist davon aber wenig zu merken. Ebenso sind zwar von S p e n g l e r ¹⁾ Unterschiede zwischen den Tuberkulinen aus den verschiedenen Abarten der Tuberkelbazillen (vom Menschen, Rind und Huhn) gefunden worden, andererseits hat man aber auf Grund von Vergleichen der Tuberkuline mit ähnlichen aus säurefesten Bakterien und Strahlenpilzen hergestellten Präparaten ein gattungs-, nicht artspezifisches Merkmal sehen wollen²⁾. Völlig geklärt ist die Sachlage also noch nicht.

1) Deutsch. mediz. Woch. 1904. 31.

2) Z u p n i k, D. Arch. f. klin. Med. 76, 1903; F e i s t m a n t e l, Zentr. Bakt. 36. 282, 1904; vgl. D e y c k e, Über die Ähnlichkeit des Nastins und Tuberkulonastins.

Die Möglichkeit liegt schließlich noch vor, daß es gelingen wird, die Gifte der Tuberkelbazillen von anderen durch ihr Verhalten zu antitoxischem Serum zu trennen. Immer wieder werden Angaben über derartige Seren gemacht. Bisher befriedigen aber die Erfolge damit recht wenig.

§ 305. Aus den Kulturen des *Rotzbazillus* sind auf ähnlichem Wege giftige Präparate hergestellt worden, wie aus denen der Tuberkelbazillen. Es handelt sich vorwiegend um hitzebeständige Leibesstoffe. Auch hier stellt sich eine ähnliche Überempfindlichkeit heraus, wie beim Tuberkulin, indem das „Mallein“ (H e l m a n n) für rotzkrankte Tiere giftiger ist als für gesunde¹⁾.

Auch die Giftwirkung des Malleins ist aber keine ganz spezifische, insofern auch andere Bakterienextrakte dieselben Erscheinungen, wenn auch in etwas geringerer Intensität, hervorrufen²⁾. Bisher ist es noch nicht gelungen, ein chemisch gut charakterisiertes Gift aus dem Mallein zu isolieren. Einen Anhaltspunkt für die Giftigkeit des Malleins bekommt man durch die Angabe³⁾, daß 6 ccm eines guten Präparats Kaninchen bei subkutaner Einspritzung in 8—15 Tagen unter starkem Gewichtsverlust töten.

§ 306. Gifte der Strahlenpilze. Die Gifte der den Tuberkel-, Rotz- und Diphtheriebazillen verwandten Strahlenpilze sind noch wenig studiert worden. Daß die pathogenen Strahlenpilze aber wirklich Gifte bilden können, ist nicht zu bezweifeln.

G a s p e r i n i ⁴⁾ gibt an — leider ohne genaue Dosierung —, daß die sterilisierten Kulturen von *Actinomyces bovis* die wenig für die Infektion empfänglichen Tiere wie Tauben, Hühner, Mäuse, Eidechsen und Schildkröten unter akuten Erscheinungen, die empfänglichen Meerschweinchen und Katzen durch langsame Vergiftung töten. M a c C a l l u m s ⁵⁾ *Actinomyces asteroides* scheint nach den Erscheinungen zu urteilen, die lebende Kulturen veranlassen, auch kräftige, besonders örtlich wirkende Gifte zu bilden. Ihr Nachweis gelang aber weder in den Filtraten der Kulturen, noch in den Glyzerinauszügen der Pilze selbst. D i D o n n a ⁶⁾ glaubte dagegen aus einer recht virulenten *Actinomyces*-art, die er aus menschlichem Auswurf gezüchtet hatte, ein Nuklein zu gewinnen, das für Kaninchen auf dem Blutwege ebenso giftig war, wie das Nuklein der Tuberkelbazillen, denn es tötete sie intravenös in Gaben von 0,02 g. Ziemlich unschädlich waren selbst große Mengen (0,5—0,7 g), wenn sie in die Brust-

1) Vgl. die umfangreiche Literatur über Mallein in Baumgartens Jahresber. 1891 u. ff.

2) S c h a t t e n f r o h, Zeitschr. f. Hyg. 18, 1894.

3) D e u t s c h und F e i s t m a n t e l, Impfstoffe und Sera 1903, S. 239.

4) Annali d'igiene 1896. 478.

5) Zentralbl. Bakt. 31. 12, 1902.

6) Annali d'igiene 1904. 454.

höhle gebracht wurden. Ähnliche Versuche **Barones**¹⁾ schlugen bei **Pseudodiphtheriebazillen** und nicht pathogenen **Actinomycesarten** fehl: die dargestellten Nukleine waren ungiftig.

Auclair²⁾ wies wie bei vielen Bakterien auch in den Ätherextrakten des **Actinomycespilzes** entzündungserregende, im Wasser unlösliche Stoffe nach.

Nach **Feistmantel**³⁾ reagieren Tiere, die mit dem **Actinomyces farcinicus** geimpft sind, auf kleine Mengen des Glyzerinextrakts des Pilzes; aber auch auf Tuberkulineinspritzungen; umgekehrt reagieren auch tuberkulöse Tiere auf den Extrakt des **Farcinicus**.

Über das **Nastin Deyckes**, das Fett eines säurefesten Strahlenpilzes, der von einem Leprakranken stammte und bei solchen wie bei Tuberkulösen starke Reaktionen veranlassen soll, vgl. S. 822.

§ 307. **Gifte von Schimmelpilzen.** Die echten Pilze, die auf und in Menschen und Tieren leben, bilden keine so kräftigen Gifte, wie viele Hutpilze und der auf Pflanzen schmarotzende Mutterkornpilz (s. u.), doch kann man ihnen die Giftigkeit nicht vollkommen absprechen. Zunächst zeigen schon die örtlichen Veränderungen, die z. B. die pathogenen Schimmelpilze (namentlich **Mucor**), aber auch **Favus**, **Trichophyton** (und Soor) erzeugen, daß sie entzündliche Reize setzen. Dann hat man auch häufig genug beobachtet, daß Tiere, die der Infektion entgangen zu sein scheinen, später doch unter Abmagerung zugrunde gehen, ohne daß man besondere Organerkrankungen findet. Es handelt sich also wohl um eine langsame Vergiftung, wie wir sie oft von den Leibesgiften der Bakterien und namentlich der Tuberkelbazillen ausgehen sehen. Wenn die Pilze schneller töten, findet man gewöhnlich so erhebliche Veränderungen der Organe, namentlich der Nieren und der Lungen, daß dadurch allein sich vielleicht der Tod erklärt.

Vom Magendarmkanal aus sind die Gifte der Schimmelpilze, die in Nahrungsmitteln gewachsen sind, wie die gewöhnliche Erfahrung lehrt (S. 586), unschädlich, doch sind mehrfach bei Haustieren nach dem Genuß von Futter, das mit **Rost-** oder **Brandpilzen** verunreinigt war, Erkrankungen beobachtet worden. Die von **Franck**⁴⁾ mit Rostpilzen bei Kaninchen angestellten Versuche ergaben ganz das Bild einer Fleischvergiftung (§ 287). Die dabei wirksamen Gifte sind bisher noch unbekannt. Wohlbekannt ist dagegen die **Kriebel-**

1) Baumgartens Jahresber. 1901. 2a.

2) Arch. méd. expér. 1903. 725.

3) Zentralbl. Bakt. 36, 1904.

4) Aams Wochenschr. 1866 u. 1867 (**Friedberger** u. **Fröhner**, Spez. Path. u. Ther. d. Haustiere I. 226, 1889).

k r a n k h e i t (Ergotismus), die durch Mutterkorn (*Claviceps purpurea*) entsteht. Nach **J a c o b y** ist das Hauptgift das **S p h a z e l o t o x i n**, ein harzartiger stickstofffreier Körper. Schließlich soll nach manchen Forschern die **P e l l a g r a** eine Vergiftung durch verpilzten Mais sein.

Den meisten Forschern ist es nicht gelungen, aus den Kulturen der Pilze oder der von ihnen befallenen Organe kräftige Gifte zu gewinnen¹⁾. Selbst das Entzündungsgift, das die Sporen des *Aspergillus fumigatus* enthalten, würde nach **M a c é** ²⁾ durch Temperaturen geschädigt, die nötig sind, um ihre Lebensfähigkeit zu vernichten. Diesen erfolglosen Bemühungen stehen allerdings Erfolge gegenüber. Nachdem schon ältere Forscher Pilze als Ursache der Verderbnis des Mais und damit der Pellagrakrankheit angeschuldigt hatten, glaubte **G o s i o** ³⁾ das *Penicillium glaucum*, und zwar namentlich zwei Abarten desselben, dafür verantwortlich machen zu können. Es sollen dabei **K a r b o l s ä u r e** und andere **a r o m a t i s c h e P r o d u k t e** als Giftstoffe wirken. **I w a n o f f** ⁴⁾ fand **a l k a l o i d ä h n l i c h e** Stoffe in *Penicillium*kulturen. Die späteren Forscher kamen bei ihren Untersuchungen von Pilzen aus verdorbenem Mais zu anderen Ergebnissen. **C e n i** und **B e s t a** ⁵⁾ gewannen, indem sie die Rasen des *Aspergillus fumigatus* tagelang in Alkohol (90%) oder Äther auszogen und die Extrakte in Wasser aufnahmen, ein Gift, das Kaninchen und Hunde, aber auch Meerschweinchen vom Bauchfell aus unter heftigem Zittern und Krämpfen tötet. Wenn die Tiere davonkommen, zeigen sich lange Zeit noch Schwäche und Durchfall. Freilich waren zum Erfolge **g r o ß e M e n g e n** nötig: so starb ein Kaninchen von 2500 g nach Einspritzung von 20 ccm der wässrigen Lösung, die 20 g des Pilzrasens entsprach, binnen 1½ Stunden. Meerschweinchen wurden nach Einverleibung von 1 — 5 ccm (entsprechend 1—5 g der Pilzsubstanz!) kaum krank oder erholten sich nach einer vorübergehenden Erkrankung wieder. Außerdem sind noch folgende Bedingungen zu beachten: die Pilzrasen müssen reichlich Sporen enthalten und nicht zu alt, ferner bei 28—30°, nicht bei 37° gewachsen sein. Merkwürdigerweise bilden die Pilze das Gift nur in der warmen Jahreszeit, nicht oder doch nur in geringer Menge in den Monaten Oktober bis März. Das Gift widersteht dem Kochen, zersetzt sich aber allmählich in wässriger Lösung. Welcher Natur es ist, bedarf noch der Feststellung. Mit Phenolverbindungen hat es aber nichts zu tun. Das Gift des *Aspergillus flavescens* ist ähnlich, aber schwächer, und läßt sich nur aus dem Ätherextrakt gewinnen. Beim *Penicillium glaucum* wurde auf ähnliche Weise Gift gefunden, das aber eine andere, mehr lähmende Wirkungen zeigt. Ebenfalls solche Wirkung hatte das Gift,

1) Vgl. z. B. **L o d e**, Arch. f. Hyg. 42 (Schimmelpilze); **C i t r o n**, Zeitschr. f. Hyg. 49, 1905 (Favus und Trichophyton). Andere Literatur bei **C e n i** und **B e s t a**.

2) Etud. myc. expérim. Thèse de Paris 1903, ref. Bull. Pasteur 1903. 788.

3) Rivista d'igiene 1896. 21 u. 24 (Baumgartens Jahresber.).

4) Baumgartens Jahresber. 1898. 635.

5) Zentr. allgem. Pathol. 1902. 930; **C e n i**, Zieglers Beitr. path. Anat. 35, 528, 1904 und 37. 568, 1905.

das sich durch Wasser oder Alkohol aus den Sporen des *Aspergillus niger* ausziehen ließ. Neuerdings berichtet Ceni¹⁾ über weitere Untersuchungen an *Penicillium*, die ergaben, daß die Giftigkeit dieser Pilze an Qualität und Intensität eigentümlichen zeitlichen Schwankungen unterliegt, für die eine Regel noch nicht gefunden werden konnte. An dem Zusammenhang zwischen der Pellagra und dem Pilzgift hält Ceni fest. Auch von Deckenbach²⁾ betrachtet einen Schimmelpilz, die *Oospora verticilloides*, die aber schon ein Parasit der lebenden Maispflanzen sein soll, als Erreger der Pellagra. Alkoholauszüge aus den Kulturen auf Mais gaben ein giftiges rubinrotes Öl, dessen in Alkalien löslicher Farbstoff in Äther ein leicht kenntliches Absorptionsspektrum besitzt und daher zur Erkennung verdächtigen Maises dienen kann. Sturli³⁾ bestätigte die Existenz des Penicilliengiftes.

Neben den spezifischen Giften müssen die Pilze aber noch ein Gift erzeugen, das die oben erwähnten örtlichen Erscheinungen bewirkt, jedoch sich bisher nicht aus den Pilzen ausziehen ließ: Die Pilzleiber wirken wahrscheinlich wegen ihrer schweren Resorbierbarkeit als Fremdkörper wie die Tuberkelbazillen (S. 985) und erzeugen daher knötchenartige Wucherungen.

§ 308. Gifte von Hefepilzen. Für die pathogenen Hefepilze (und „Oidien“) gilt im allgemeinen dasselbe, was von den Schimmelpilzen gesagt wurde.

Große Mengen Kulturfiltrats der Soorhefe (20—40) töten allerdings Kaninchen, geringere erzeugen Fieber usw., doch sind die Haupterscheinungen durch die örtlichen Wirkungen bedingt⁴⁾, die von den Pilzleibern selbst ausgehen. Geradezu geschwulstartig sind nach Sanfelice⁵⁾ die Gewebsveränderungen, die die Gifte des *Saccharnoformans* erzeugen. Er benutzte meist Aufschwemmungen alter freiwillig abgestorbener Kulturen auf Kartoffeln. Wenn er auch von löslichen Giften spricht, so bleibt man doch im Zweifel darüber, ob nicht etwa die ungelösten Bestandteile dabei eine Rolle spielen und als Fremdkörper wirken, ähnlich wie abgetötete Tuberkelbazillen und Schimmelpilze (s. o.). Für die Erklärung der bösartigen Neubildungen, wie Sanfelice meint, haben diese Versuche wohl keine Bedeutung.⁶⁾

Auch die nicht pathogenen Hefepilze sind wohl giftig, wenn man sie in sehr großer Menge, z. B. ins Bauchfell von Tieren, einspritzt. Schon Hüppe⁷⁾ konnte so das Bild des Cholerakollapses erzeugen durch Rautenthaler Weinhefe. Hahn⁸⁾ sah nach Einverleibung des Preßsaftes der Bierhefe oder steriler Dauerhefe (§ 89) Eiterung und allgemeinen Maras-

1) Zieglers Beitr. 39, 1906.

2) Zentr. Bakt. 45. 507.

3) Wien. klin. Woch. 1908. 20.

4) Charrin und Ostrowsky, Compt. rend. biol. 1896. 743; Ostrowsky, Rech. sur le muguet, Thèse de Paris 1896; Noisette, Rech. sur le muguet, Thèse de Paris 1898; Cao, Zeitschr. f. Hyg. 34, 1900.

5) Annali d'ig. sperim. 1907 und 1908.

6) Über pathogene Hefen vgl. Buschke und Sternberg S. 248.

7) Berl. klin. Woch. 1892. 17.

8) Münch. med. Woch. 1903. 50.

mus eintreten. Kaninchen gingen nach Einspritzung von 2 — 4 g Dauerhefe in das Bauchfell meist zugrunde, ebenso eine Ziege, die mehrmals 40—150 ccm Preßsaft — im ganzen 490 ccm — erhalten hatte. Dabei fand sich eine eitrige Peritonitis mit starker Gasentwicklung durch die Wirkung der Zymase.

Vom Verdauungskanal des Menschen werden sehr große Mengen von Hefen vertragen, wie die bekannte Hefetherapie gelehrt hat (vgl. C e r o l i n S. 73).

§ 309. Gifte bei Pflanzenkrankheiten. Es liegt nach den Erfahrungen des § 307 nahe, anzunehmen, daß auch die Pilze, die auf P f l a n z e n schmarotzen, auf das pflanzliche Protoplasma giftig wirken. Die mechanische Wirkung allein genügt wohl nicht, um die bei der Infektion auftretenden Erscheinungen zu erklären, ebenso wenig die Ausscheidung von Enzymen. In manchen Fällen scheint das Gift eine organische Säure, die Oxalsäure zu sein (S. 808), es werden aber auch noch andere Gifte ins Spiel kommen. Bisher sind solche nur nachgewiesen bei B a k t e r i e n, die P f l a n z e n k r a n k h e i t e n verursachen (S. 226). Sie sind entweder hitzebeständig und werden dann in ihrer Wirkung durch Säuren unterstützt, wie L e p o u t r e für den Bac. fluorescens fand, oder sie bedürfen der sauren Reaktion nicht und werden durch Kochen zum größten Teil zerstört, wie S p i e c k e r m a n n bei der „bakteriellen Wundfäulnis“ von Möhren, Kartoffeln und Rüben feststellte. Eine Isolierung dieses letzteren Giftes gelingt nicht, wenn es sich auch in Alkohol fällen und wieder in Wasser lösen läßt. Es diffundiert sehr schwer und geht durch B a k t e r i e n f i l t e r nicht hindurch. Um daher auf das Protoplasma der Pflanzen wirken zu können, muß es vergesellschaftet sein mit einem membranlösenden Enzym (der Pektinase § 74 oder Zellulase § 76), das ihr den Weg vorbereitet. V a n H a l l scheint bei dem Bacillus omnivorus, der Irispflanzen befällt, ein ähnliches Gift gefunden zu haben. Die Wirkungsart der Gifte und auch der Säuren besteht stets darin, daß das Protoplasma der Zellen sich zusammenzieht und anscheinend abstirbt.

§ 310. Gifte der Protozoen. Die Gifte der Protozoen sind bisher sehr wenig bekannt, obwohl diese, nach den Erscheinungen am infizierten Tier und Menschen zu schließen, solche zu bilden scheinen. Schon bei den f r e i l e b e n d e n A m ö b e n, Ziliaten usw., die andere Kleinwesen fressen, ist es wahrscheinlich, daß sie Giftstoffe absondern, durch die letztere getötet werden, denn es ist nachgewiesen, daß z. B. Bakterien in den Verdauungsenzymen der Amöben nur verdaut werden, wenn sie abgetötet sind (M o u t o n S. 500), ja, ältere Forscher schon (E h r e n b e r g, M a x S c h u l t z e) haben beobachtet, daß bewegliche Tierchen, wenn sie von den Scheinfüßchen der Rhizopoden be-

rührt werden, gelähmt werden. Der dabei wirksame Stoff ist zwar noch unbekannt. Man könnte aber daran denken, daß er Ähnlichkeit besäße mit den Abwehrstoffen (Alexinen und Leukinen) höherer Tiere. Nur in wenigen Fällen ist es gelungen, aus parasitischen Protozoen Gifte zu gewinnen. Der erste und am besten gesicherte Fall betrifft jedoch eigentümlicherweise eine Infektion, die unter sehr geringen oder ohne Allgemeinerscheinungen verläuft, die *Sarkosporidienkrankheit*.

Schon L. Pfeiffer¹⁾, dann Kasparek²⁾, Laveran und Mesnil³⁾, Rievel und Behrens⁴⁾ haben mit Auszügen aus dem leicht zu erhaltenden Zysteninhalt der Miescherschen Schläuche Entzündung und Fieber, Diarrhöe, Abmagerung, in großen Gaben Kollaps und Tod erzielt. Nach Laveran und Mesnil genügt der filtrierte Glyzerinextrakt von 1 mg frischer Sarkosporidien, um 1 kg Kaninchen von der Unterhaut binnen 5—10 Stunden zu töten. Meerschweinchen, Ratten, Mäuse, Hunde, Hühner, Tauben sind wenig, Hammel, Schildkröten und Frösche gar nicht für das „Sarkozystin“ empfänglich. Wir haben hier also wohl wieder nur ein Beispiel von zufälliger Giftigkeit (S. 859). Nach Rievel und Behrens soll sich übrigens das Gift in der Hirnsubstanz anhäufen, denn das Hirn der vergifteten Kaninchen ist selbst giftig.

Auch die *Plasmodiophora brassicae* bildet nach v. Prowazek⁵⁾ ein Gift, dessen Extrakt Paramäcien in 1—1½ Stunden tötet. Sonst liegt zunächst noch ein gelungener Versuch vor, den außer Mannaberg namentlich Rosenau, Parker, Francis und Beyer⁶⁾ mit Malaria Blut vorgenommen haben.

9 ccm Serum des nach Defibrinierung und Verdünnung mit Zugabe gleicher Mengen Kochsalzlösung durch ein Berkefeldfilter geschickten Blutes eines am Tertianfieber im Froststadium leidenden Menschen erzeugten bei einem Gesunden intravenös eingeführt einen Fieberanfall, der 35 Minuten später auftrat, 38,7° erreichte und zwei Stunden dauerte. Ohne Wirkung blieb ein ähnlicher Versuch mit Blutserum eines Tropenfiebers bei abnehmender Temperatur. Man wird sich nach den Erfahrungen, die man mit Serumhämolysinen, Hämoglobin usw. gemacht hat, hüten müssen, Schlüsse daraus zu ziehen.

Am nächsten lag es, mit *Trypanosomen*, die man verhältnismäßig leicht aus infiziertem Blut in Kultur gewinnen kann, Versuche anzustellen.

1) Protozoen als Krankheitserreger 1891; Untersuchungen über den Krebs 1893.

2) Zentr. Bakt. 18.

3) Compt. rend. soc. biol. 1899, I. 311.

4) Zentr. Bakt. 35, 1903.

5) Österr. bot. Zeitschr. 1902.

6) Ref. Bull. Pasteur 1905. 705.

K a n t h a c k , D u r h a m und B l a n f o r d ¹⁾ hatten aber kein Ergebnis, in welcher Weise sie auch das Gift aus den Parasiten auszuziehen suchten. L a v e r a n und M e s n i l ²⁾ hatten ebensowenig Erfolg bei Verwendung von Berkefeldfiltraten von Blut, auf 50° erhitztem Blut, Organextrakten, Trypanosomenauszügen, ob sie die Einspritzungen unter die Haut oder in das Gehirn vornahmen; desgleichen M. M a y e r ³⁾ mit autolytischen Extrakten von Bluttrypanosomen. N o v y und M c N e a l ⁴⁾ sahen höchstens örtliche Erscheinungen, wenn sie die von ihnen rein gezüchteten Trypanosomen im nicht virulenten oder sterilen Zustand oder in Extraktform verwendeten.

Diese mangelhaften Ergebnisse rechtfertigen, da ja bei Bakterienkrankheiten (Milzbrand u. a. m.) ähnliche Erfahrungen gemacht sind, noch nicht die Vermutung, daß die pathogenen Protozoen keine allgemeinen Gifte bilden (vgl. S. 859 ff.). Immerhin wird man gerade bei den Blutparasiten unter ihnen am ehesten daran denken dürfen, daß sie allein schon durch ihren mechanischen Einfluß (z. B. auf Blutkörper bzw. durch mehr oder weniger vollständige Verstopfung ganzer Gefäßbezirke) schädlich wirken können. Die mit Trypanosomen erhaltenen örtlichen Reizwirkungen erinnern daran, daß auch bei der Trypanosomiasis des Menschen (Schlafkrankheit) und der Tiere (z. B. der Dourine) entzündliche Veränderungen an der Tagesordnung sind. Die Erklärung der eigentümlichen Veränderungen der nervösen Zentralorgane bei der Dourine wird aber dadurch noch nicht geliefert, denn hier wurden bisher die Parasiten ebenso vermißt wie bei der T a b e s und P a r a l y s e die S p i r o c h a e t e n der S y p h i l i s. Die letzteren sollen hier nur erwähnt sein wegen der Ähnlichkeit, die sie mit den Trypanosomen haben, obwohl wir sie nicht zu den Protozoen stellen (vgl. § 359). Experimentelle Erfahrungen über Spirochaetengifte fehlen im übrigen, obwohl sie jetzt mit Hilfe von Kulturen vielleicht möglich wären.

§ 311. Gifte der Chlamydozoen. Über die Gifte der von P r o w a z e k so genannten ultramikroskopischen Krankheitserreger wissen wir noch weniger. Die Schwierigkeiten der Untersuchung werden hier dadurch vermehrt, daß diese Keime oft durch die Filter hindurchgehen („filtrierbare Virus“ vgl. S. 2, Anm. 2), daß ferner bisher die Möglichkeit, mit Reinkulturen — auf künstlichen Nährböden — zu arbeiten, noch nicht gegeben, man daher fast ausschließlich mit Bestandteilen des tierischen Körpers oder dessen Extrakten, die selbst nicht unschädlich sind, zu arbeiten gezwungen ist.

1) Hyg. Rundschau 1898. 24.

2) Trypanosomes et trypanosomiasis Paris 1904.

3) Zeitschr. experim. Path. 1. 542, 1905.

4) Vgl. die zahlreichen seit 1903 erschienenen Arbeiten dieser Forscher.

So sind denn auch die Angaben **B a b e s**'¹⁾ über die Gewinnung langsam tötender Gifte aus dem Gehirn von an **H u n d s w u t** verstorbenen Tiere und Menschen von **H e l l e r** und **B e r t a r e l l i**²⁾ nur insofern bestätigt worden, als die Stoffe aus kranken Gehirnen etwas kräftiger wirkten als aus gesunden. Ob daher die paralytischen Symptome, die nach **R e m l i n g e r**³⁾ in sehr seltenen Fällen (1 : 1000) bei Personen auftreten, die der Wut-Schutzimpfung unterworfen gewesen sind, als Wirkungen des Wutgifts aufzufassen sind, steht dahin.

Ebenso zweifelhaft in ihrer Deutung sind die Versuche **W i l m s**'⁴⁾ mit dem Wasser sog. **K r o p f b r u n n e n**. Es gelang ihm nicht nur nach dem Vorgange **B i r c h e r s**⁵⁾ durch die Aufnahme solchen Wassers bei Ratten Kröpfe zu erzielen, sondern er erhielt auch noch Erfolge, wenn das Wasser durch Berkefeldfilter hindurchgegangen oder auf 60—70° erhitzt war, während bei Erhitzung auf 80° die Kropfbildung fehlte. Uns scheint die Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein, daß es sich hier um die Wirkung eines filtrierbaren Virus, nicht, wie **W i l m s** meint, um die eines Toxins handelt.

§ 312. **Blutgifte (Hämolysine) der Bakterien**⁶⁾. Unter den Giften der Bakterien verdienen diejenigen, deren Wirkung sich schon außerhalb des Körpers, im Reagensglas oder unter dem Mikroskop nachweisen läßt, eine besondere Besprechung. Das sind in erster Linie die Hämolysine (Hämotoxine), die rote Blutkörperchen aufzulösen vermögen. Während man bis dahin nur blutlösende Wirkungen lebender Kulturen gekannt hatte⁷⁾, fand das erste Beispiel eines blutlösenden Giftes **E h r l i c h**⁸⁾ in dem **T e t a n o l y s i n**, das neben dem die eigentliche Krankheit bedingenden **T e t a n o s p a s m i n** in Kulturen und Giftlösungen der Tetanusbazillen vorkommt.

E h r l i c h stellte schon die Verschiedenheit beider Gifte durch folgende Beobachtungen fest:

1. In verschiedenen Giftlösungen (Ammoniumsulfatfällungen vgl. S. 921) findet sich die hämolytische und toxische Wirkung in ungleichem Verhältnis, bald mehr die eine, bald die andere.

2. Das Tetanolysin wird schon durch 20 Minuten dauernde Erhitzung auf 50° vernichtet, das Tetanospasmin erst durch höhere Temperaturen.

1) Zentr. Bakt. 27, 1900; Festschr. f. **L e y d e n**, 1902.

2) Zentr. Bakt. 36, 1904; vgl. auch **M a r i e**, Compt. rend. ac. sc. 14. VII. 1905.

3) Annal. Pasteur 1905.

4) Deutsche med. Woch. 1910. 13.

5) D. Zeitschr. f. Chir. 103.

6) Vgl. **P r i b r a m**, Über Bakterienhämotoxin und Antihämotoxin (in **K o l l e - W a s s e r m a n n s** Handb. 1. Erg.-Heft 1906, S. 291—346).

7) Längst bekannt ist die Blutlösung durch Fäulnisbakterien. Dann kamen (1884) **R. K o c h s** und (1886) **B i t t e r s** Beobachtungen an Reinkulturen vom Cholera vibrio. Andere Funde betrafen Hämolyse in lebenden Tieren.

8) Berl. klin. Woch. 1898, 12 (Gesellsch. d. Charité-Ärzte).

3. Den Giftlösungen läßt sich das Tetanolysin durch rote Blutkörperchen zum größten Teil entziehen.

4. Jedes Gift bildet ein eigenes Antitoxin; das Serum kann z. B. stark antispastisch und gar nicht antilytisch sein und umgekehrt.

M a d s e n ¹⁾ hat dann im Laboratorium Ehrlichs weiter festgestellt, daß das Tetanolysin in seinem Bau eine große Ähnlichkeit mit dem Diphtheriegift hat, indem es eine „haptophore“ (blutkörperchen- und antitoxinbindende) und eine toxophore (lösende) Gruppe besitzt, die jede für sich veränderlich ist. Man kommt so zu der Vorstellung, daß neben den „Hämotoxinen“ auch hier „Toxoide“ (Lysinoide) und „Toxone“ möglich sind. Mit Hilfe des Tetanolysins und Antilysins hat weiter M a d s e n seine interessanten „Heilversuche im Reagensglas“ angestellt. Wir haben von diesen Verhältnissen, an die sich später die widerspruchsvolle Erörterung über den Bau der Bakteriengifte und die Wirkungsweise des Antitoxins geknüpft hat (A r r h e n i u s und M a d s e n) an anderer Stelle (§ 275 u. 276), gesprochen und kommen weiter unten (§ 313) darauf zurück.

Später folgten die systematischen Untersuchungen von K r a u s und C l a i r m o n t ²⁾ und vielen anderen Forschern über die Hämolysine aller möglichen Bakterien.

Man prüft die blutlösende Fähigkeit gewöhnlich in der Weise, daß man 1 ccm einer 5 prozentigen Aufschwemmung von gewaschenen Blutkörperchen in 0,85% der Kochsalzlösung im Reagensglas mit abgemessenen Mengen abgetöteter Kulturen, Bakterienaufschwemmungen, Kulturfiltraten oder Zentrifugaten versetzt, wenn nötig mit Kochsalzlösung auf 2 ccm auffüllt, die Mischung 2 Stunden bei 37° im Wasserbad oder Brutofen hält und dann über Nacht im Eisschrank läßt. Ist die Lösung vollständig („komplett“), so ist die Flüssigkeit klar (lackfarben) und kein Bodensatz (oder nur ein solcher von Bakterien) vorhanden. Bei weniger vollständiger Lösung tritt ein gefärbter Bodensatz auf. Beim weiteren Sinken der hämolytischen Kraft wird der Bodensatz immer stärker und öfter und die darüber stehende Flüssigkeit, namentlich in ihrer oberen Schicht, hell und heller rot, beim Fehlen der Hämolysen schließlich ganz farblos. In einzelnen Fällen ist die Benutzung von Agarplatten mit Blutzusatz vorzuziehen, in anderen ist sogar dieser feste Nährboden zum Nachweis der Lösung allein zu gebrauchen (S. 1001). Über die Messung der Hämolysen auf kolorimetrischem Wege vgl. S. 1007.

Die Blutkörper der einzelnen Tiere verhalten sich verschieden gegen die Lysine³⁾. Allgemein läßt sich Kaninchenblut verwenden, meist auch Hundeblood, die Blutkörper des Menschen und der Ziege sind gewöhnlich widerstandsfähiger, doch gilt für jedes Hämolysin eine besondere Reihenfolge; z. B. für das Staphylolysin steht das Kaninchen an erster Stelle, dann folgen Hammel, Schwein, Hund, Meerschweinchen, Pferd, Ziege, Mensch und Gans. Die entsprechende Reihe für das Colilysin ist: Hund,

1) Zeitschr. f. Hyg. 23. 214, 1899.

2) Wien. klin. Woch. 1900 und 1901.

3) Vgl. darüber auch die neueste Arbeit von B a c h r a c h und G r a f e, Arch. f. Hyg. 70, 1909.

Pferd, Rind, Kaninchen, Meerschweinchen, Mensch; die Körperchen von Hammel, Schwein, Taube, Gans scheinen gar nicht zu reagieren. Bei Streptokokken (in Blutagarplatten) ist die entsprechende Reihenfolge: Ziege, Rind, Kaninchen, Mensch (Puppel s. u.). Für Pestbazillen eignen sich Menschen- und Pferdeblutkörper, wenn auch nicht ausschließlich, aber doch besser als solche von Kaninchen, für Cholerabazillen Kaninchen- besser als Ziegenblut.

Im allgemeinen ist es sicherer, gewaschene Blutkörper zu verwenden, weil das Serum, z. B. des Menschen, der Ziege, des Pferdes, viel seltener das des Kaninchens (Kayser) die Lösung hemmt (vgl. S. 1009).

Niedrige Temperaturen hemmen sie ebenfalls, doch findet dabei schon eine Bindung des Hämolysins an die Blutkörper statt; sehr hohe Gaben des Lysins können aber auch dann die Lösung bewirken, so braucht man nach Madsen bei 24 stündiger Anwendung einer Temperatur von 0 — 1° ungefähr 100 mal soviel Tetanolysin wie bei der gewöhnlichen Anordnung. Vgl. § 314.

Blutkörper verschiedener Individuen derselben Art können verschieden empfindlich sein. So lösten z. B. 0,05 ccm eines Staphylolysin das Blut dreier Kaninchen vollständig, die Mengen, die noch spurenweise lösten, schwankten aber von 0,005 — 0,0005 ccm. Ebenso zeigten sich Unterschiede in dem Verhalten des Blutes bei niederen Temperaturen, manche Blutkörper wurden bei 0° schon gelöst, andere nicht (Neißer und Wechsberg s. u.).

Die von Raybaud und Hawthorn¹⁾ gemachte Beobachtung, daß Tuberkelbazillenkulturen nur das Blut von tuberkulösen, nicht von gesunden Meerschweinchen auflösen, beruht vielleicht auf einer geringeren Widerstandsfähigkeit der ersteren.

Die hämolytische Fähigkeit der einzelnen Bakterienarten und auch ihrer einzelnen Stämme ist selbst unter den geeignetsten Wachstumsbedingungen (s. u.) eine sehr verschiedene. Letztere Tatsache hat man besonders bei Staphylokokken und Streptokokken festgestellt und glaubt sie mit einem gewissem Recht in Beziehung setzen zu dürfen zur Virulenz der betreffenden Stämme. Neißer und Wechsberg²⁾ wiesen zuerst darauf hin, daß die eiterungerzeugenden gelben oder weißen Staphylokokken stets Hämolysin bildeten, und zwar betrug bei der obigen Versuchsanordnung die gerade zur vollständigen Lösung von Kaninchenblutkörpern ausreichende Menge der Bouillonfiltrate 0,0075—1 ccm oder mehr. Andere aus der Luft, von der Haut stammende, meist ungefärbte und schlecht verflüssigende Staphylokokken lösten überhaupt nicht. Die späteren Untersuchungen³⁾ bestätigten das im wesentlichen, doch scheinen Ausnahmen und Übergänge vorzukommen. Vor allem muß man im Auge behalten, daß ein und derselbe Stamm, wie es nament-

1) Soc. biol. 1903 Nr. 55 (nach Pribram).

2) Zeitschr. f. Hyg. 36, 1901.

3) Kutscher und Konrich ebenda 48, 1904 mit Lit., Fränkel und Baumann, Münch. med. Woch. 1905. 20.

lich auch bei Diphtheriebazillen¹⁾ nachgewiesen ist, während der künstlichen Kultur die Fähigkeit, Blut zu lösen, verlieren kann. In dieser Beziehung scheinen die Streptokokken²⁾ weit beständiger zu sein, während sie, mindestens nach der Meinung mancher Forscher (N a t v i g , Z a n g e m e i s t e r), unter natürlichen Bedingungen, d. h. in und auf lebenden Menschen und Tieren, sehr wohl derartige Wandlungen und auch die umgekehrte — aus nicht hämolytische in hämolytische Rassen — durchmachen sollen. Der strenge Beweis dafür ist freilich sehr schwer zu führen, und die Bedingungen, unter denen die Umwandlung erfolgt, sind noch dunkel. Jedenfalls steht auch hier wie bei den Staphylokokken fest, daß die Streptokokken, die aus pathologischen Prozessen gezüchtet werden, gewöhnlich hämolytisch sind, die von gesunden Schleimhäuten, Mund und Rachen, Darm, Scheide, von der Haut, aus der Milch stammenden dagegen ebenso gewöhnlich nicht hämolytisch. Allerdings hat diese Regel Ausnahmen, nach Ansicht mancher Forscher sogar sehr viele, indessen rührt das wohl zum Teil daher, daß man nicht immer genügend auf die Art der gefundenen Streptokokken geachtet hat. Der pathogene *Str. lanceolatus* (und *mucosus*) ist, wie schon S c h o t t m ü l l e r beobachtet, ebenso häufig nicht hämolytisch, wie der *Str. pyogenes* hämolytisch. Außerdem ist es nach den in meinem Laboratorium von P u p p e l gemachten Erfahrungen unbedingt nötig, auf den Grad der Hämolyse zu achten. Um so sicherer scheinen die hämolytischen Streptokokken für die Menschen pathogen zu sein, je ausgesprochener sie M e n s c h e n b l u t³⁾ lösen (s. o.).

1) S c h w o n e r , Zentralbl. Bakt. 35. 613, 1904.

2) B e s r e d k a , Annal. Pasteur 1901; M a r m o r e k , Berl. klin. Woch. 1902. 14; L u b e n a u , Zentr. Bakt. 30, 366, 1901; S c h o t t m ü l l e r , Münch. med. Woch. 1903. 20/21; S c h l e s i n g e r , Zeitschr. f. Hyg. 44, 1903; S i m o n , Zentr. Bakt. 35, 1904; K e r n e r ebenda 38. 223, 1905; B a u m a n n , Münch. med. Woch. 1906. 25; N a t v i g , Arch. f. Gyn. 76, 1906; P. T h . M ü l l e r , Arch. Hyg. 56. 1906; N i e t e r , Zeitschr. f. Hyg. 56, 1907; v. B a r d e l e b e n , Arch. Gyn. 83, 1907; R ü d i g e r , Journ. of. inf. dis. 1907; S a l o m o n , Zentr. Bakt. 47, 1908; F r o m m e u. H e y n e m a n n , Berl. klin. Woch. 1908. 919; H e y n e m a n n , Arch. f. Gyn. 86; F r o m m e ebenda 87; C. F r ä n k e l , Münch. med. Woch. 1909, 311; L ü d k e und P o l a n o , ebenda S. 9; Z a n g e m e i s t e r , Deutsch. med. Woch. 1909. 10/11 und Verh. Ges. f. Gynäk. 1909; Gesellsch. f. Chir. 1910; Z ö p p r i t z , Verh. Ges. f. Gynäk. 1909; E. S a c h s , Zeitschr. Hyg. 63, 1909; P u p p e l , Verh. Naturf. Versamml. Königsberg 1910 (Zeitschr. Hyg. 1911).

3) Zweifelhaft ist es dagegen, ob die für Mäuse, Kaninchen, Rinder virulenten Streptokokken in deren Blut die größte Wirkung äußern. Die ganze Frage verdiente namentlich auch für andere Bakterien noch gründlicher studiert zu werden.

Mit diesen Bemerkungen wollen wir aber nicht sagen, daß die Fähigkeit, Blut zu lösen, immer mit der Virulenz des *Strept. pyogenes* parallel gehe, sondern nur die Ansicht begründen, daß die Hämolyse ein, bei dem fühlbaren Mangel anderer Mittel¹⁾ nicht unwichtiger Anhalt für die Beurteilung seiner Virulenz ist. — Wohl im Auge zu behalten ist, daß das hämolytische Vermögen in Filtraten je nach dem Alter der Kultur, die man untersucht, wechselt.

Beim *Staphylococcus pyogenes* ist sie am größten zwischen dem 3. und 20. Tage, beim *Bac. pyocyaneus*²⁾ zwischen dem 7. und 34. Tage, beim *Typhusbazillus*³⁾ nach 14 Tagen, beim *Colibazillus*⁴⁾ nach 4—6 Tagen, beim *Diphtheriebazillus*⁵⁾ nach 1—14 Tagen, beim *Hühnercholera*bazillus nach 12 Tagen. Lubenau findet sogar von einem zum anderen Tage beim *Staphylococcus* sehr erhebliche Schwankungen des hämolytischen Vermögens, so daß es heute da sein, morgen verschwinden und übermorgen wiedererscheinen⁶⁾ kann. Um sicher zu sein, daß man die hämolytische Fähigkeit nicht übersieht, empfehlen Kutscher und Konrich die Filtrate der Staphylokokken vom 3. bis zum 20. Tage täglich zu prüfen.

Unter den stärker hämolytischen Bakterien sind in erster Linie zu nennen außer vielen Staphylokokken und Streptokokken (vom Typus des *Str. pyogenes*), *Bac. pyocyaneus*, die Bazillen des Tetanus (a. a. O.), malignen Ödems und Rauschbrandes⁶⁾, der Hühnercholera⁷⁾, *Bac. megatherium*⁸⁾, virulente Pestbazillen⁹⁾ und manche Coliarten (s. o.), viele choleraähnliche Vibrionen, wie z. B. der *Vibrio* Nasik. Metschnikoff, Finkler-Prior, Berolinensis¹⁰⁾, aber auch die vielleicht zu den echten Choleravibrionen gehörigen El-Tor-Stämme¹¹⁾. Geringer

1) Das beste besteht wohl in der Prüfung auf Phagozytose bzw. Opsonierbarkeit in dem betreffenden Blutserum, vgl. § 322.

2) Bulloch und Hunter, Zentr. Bakt. 28. 265, 1900; Weingeroff ebenda 29. 277, 1901; Lubenau a. a. O.; Breymann ebenda 31, 1902.

3) E. und P. Levy ebenda 30. 405, 1901; Castellani, Lancet 15. II. 1902; Williamson, Biochem. Zentr. 3.

4) Kayser, Zeitschr. f. Hyg. 42, 1903; Mori, Zentr. Bakt. 38, 1905.

5) Schwoner, Lubenau a. a. O.

6) Eisenberg, Soc. biol. 16. III. 1907.

7) Calamida, Zentr. Bakt. 35, 1904.

8) Todd, Lancet 14. XII. 1901 und Transact. Pathol. Society London 1902; Dreyer und Blake, Lancet 1904 (nach Pribram).

9) Raybaud, ref. Biochem. Zentralbl. 1; Uriarte ebenda (Pribram).

10) Masi (bei Pribram), Kraus, Wien. klin. Woch. 1903. 50: 1905. 999; 1906. 11; Meinicke, Deutsch. med. Woch. 1904. 23 und Zeitschr. f. Hyg. 50; Prausnitz, Berl. klin. Woch. 1905. 19.

11) Kraus und Pribram, Wien. klin. Woch. 1905. 39.

und lange nicht so beständig ist die Hämolysinbildung bei Milzbrand¹⁾, Typhus (s. o.), Ruhr²⁾, Proteus³⁾, Diphtherie (a. a. O.), vielen Stämmen des Streptococcus pyogenes (s. o.) und namentlich des Strept. lanceolatus⁴⁾ und Strept. lacticus⁵⁾, Diplococcus catarrhalis und Micr. tetragenus⁶⁾. Gar kein Hämolysin (in dem gewöhnlichen Sinne, s. u.) erzeugen Cholerabazillen, Pseudodiphtherie⁷⁾ und Xerose⁸⁾, Bac. botulinus und putrificus coli, Paratyphus⁹⁾, Sarcina lutea¹⁰⁾ und viele andere Saprophyten, wozu ja auch viele Staphylo- und Streptokokken (s. o.) gehören. Im übrigen besitzen diese Angaben keinen unbedingten Wert, da offenbar viel auf die veränderliche Stammeseigentümlichkeit, die Untersuchungsmethode sowie den Nährboden ankommt. Im Blutagar (s. u.) scheinen sogar die allermeisten Bakterien, die bei der gewöhnlichen Prüfung dazu unfähig sind, Hämolyse zu verursachen.

Für viele Bakterien ist es nötig, die flüssigen Nährböden in bestimmter Weise zusammenzusetzen, um gute Hämolyse zu erzielen.

So soll für die Streptokokken die Reaktion der Bouillon schwach alkalisch, für den Bac. megatherium stärker alkalisch, für die Colibakterien schwach sauer sein. Streptokokken verlangen einen Zusatz von Blutserum, und zwar ist die Wirkung verschieden, je nach dem Serum, das man wählt; so lösten nach Besredka Kulturen in Menschenserum auch die Blutkörper der Ziege und des Lammes, solche in Ziegenserum nicht. Diphtheriebazillen, die ihre hämolytische Kraft verloren haben, können sie nach Schwoner wiedergewinnen, wenn man der Bouillon Pferdeserum setzt. Traubenzuckerbouillon wäre nach Lubenau wenig geeignet, weil sie schon ungeimpft Hämolysine bewirkte. Andererseits schädigt der Traubenzucker die Hämolysinbildung öfters. Wittepepton beeinträchtigt nach Madsen und Walbum¹¹⁾ die Bildung des Tetanolysins, nach Heyrowsky und Landsteiner die des Antraxlysins, besser eignet sich nach den letzteren Forschern Pepton Chaptou in $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{8}$ prozentiger Lösung.

1) v. Wunschheim, Arch. f. Hyg. 54. 253, 1905; vgl. auch Casagrandi, Annali d'igiene 1902; Heyrowsky und Landsteiner, Zentr. Bakt. 44, 1907.

2) Castellani, Lancet 15. II. 1902; Schöbl, Wien. klin. Woch. 1908. 1442. Eigene Beobachtungen.

3) Kraus und Clairmont a. a. O.

4) Martelli, Annali d'igiene 1901; Casagrandi, ber. Biochem. Zentralbl. 1903. 200; vgl. auch Schottmüller a. a. O.

5) S. o. Baumann, Nieter, Puppel a. a. O.; Baehr, Arch. Hyg. 72, 1910.

6) Lubenau s. o. Lode, Zentr. Bakt. 33.

7) S. Anm. 8.

8) S. o. Schwoner.

9) S. o. Kayser.

10) S. Anm. 6.

11) Zentr. Bakt. 40. 409.

In den oben aufgeführten Fällen läßt sich gewöhnlich die Hämolyse auch ohne lebende Bakterien erhalten. Manche der als Gewährsmänner genannten Forscher haben allerdings angegeben, daß sie die Blutlösung nur mit lebenden Kulturen erzielen konnten, nicht mit Filtraten oder durch Hitze, Chemikalien u. dgl. abgetöteten Kulturen (Pyocyaneus, Streptokokken, Diphtheriebazillen), andere sind aber glücklicher gewesen. Wahrscheinlich hängen die gefundenen Unterschiede entweder von den benutzten Bakterienstämmen und Nährböden oder von der Durchlässigkeit der Filter und der sonstigen Methodik oder aber von der Empfindlichkeit der betreffenden Hämolyse ab. Die gewöhnliche Auffassung, daß die meisten Hämolyse als echte Sekrete zu gelten hätten, ist schwer zu beweisen, immerhin wahrscheinlicher als dieselbe Annahme für andere Toxine (S. 870). In jedem Fall werden sie, bis auf die unten zu erwähnenden Fälle, wo man von Stoffwechselprodukten (Ammoniak) sprechen darf, Bestandteile der Bakterienleiber sein, die aus letzteren schwerer oder leichter, aber oft wohl auch nicht ohne vorhergegangene Schädigung der Zelle ausgeschieden werden. Leider hat man es bisher versäumt, Methoden, die eine vollständige Auflösung der Bakterienleiber ermöglichen, wie das Preßsaftverfahren, hier anzuwenden. Sie würden vielleicht auch überall da, wo bisher der Nachweis von Hämolyse in flüssigen Nährböden nicht gelungen ist, es auffinden lassen. Daß übrigens die in Alkohol, Äther usw. löslichen Bestandteile aller möglichen Bakterien und auch von Trypanosomen für sich in Extraktform dargestellt, hämolytisch wirken, haben Landsteiner und Raubitschek¹⁾ sowie Muttermilch²⁾ nachgewiesen. Es ist das aber kaum zu verwundern, da Lipide Blut ebenso wie manche andere Zelle zu lösen pflegen (§ 8 vgl. aber S. 1009).

Mag unsere Auffassung berechtigt sein oder nicht, die Tatsache steht fest, daß lebende Kulturen regelmäßig eine viel kräftigere Blutlösung hervorrufen als Filtrate usw. — für die übrigen Giftwirkungen gilt ja meist das gleiche — und daß wir in zahlreichen Fällen ausschließlich mit Hilfe der lebenden Kulturen hämolytische Wirkungen hervorrufen können. Am längsten bekannt sind solche von den Choleraspirillen (R. Koch 1884). Wenn man sie in flüssigen oder festen Nährböden mit Blut züchtet, beobachtet man gewöhnlich, aber nicht immer eine Auflösung der roten

1) Zentr. Bakt. 45. 660 und 46. 508.

2) Soc. biol. 24. X. 1908.

Blutkörper, bei weitem am schönsten und sichersten aber in Agarplatten, die man nach dem Vorgange von Eijkmann¹⁾ durch Zumischung von Blut (10%) zum Agar anlegt. Die Kolonien zeigen sich da umgeben von scharf umgrenzten farblosen Höfen.

Die genaue Untersuchung des Vorganges durch Schottmüller²⁾, R. Kraus, Prausnitz, und namentlich Meinecke und Pribram³⁾, sowie in meinem eigenen Laboratorium durch Bürgers⁴⁾ lehrte, daß einzelne Cholerastämme und eine Anzahl von Vibrionen, die sich auch durch die Gemeinsamkeit mancher anderen Charaktere als eine natürliche Gruppe erweisen, weder in Filtraten noch auf Blutagar Hämolyse mit Hofbildung (Meinecke) bewirken, oder höchstens nach einer Reihe von Tagen im Blutagar den Beginn einer Auflösung von Blutkörperchen durch Aufklärung (Lackfarbigwerden der Platte) anzeigen (Pribram). Die große Mehrzahl der Cholerastämme, gleichgültig ob sie vom Menschen frisch gezüchtet sind oder lange in künstlichen Nährböden gelebt, sowie zahlreiche andere Vibrionen zeigen dagegen im Blutagar⁵⁾ mehr oder weniger ausgesprochene Hämolyse, während sie in Filtraten stets fehlt. Nur bei den sogenannten, aus Dysenterieleichen stammenden, Vibrionen von El-Tor, die doch in allen ihren sonstigen Eigenschaften mit echten Cholerabakterien übereinstimmen, ergeben Filtrate und Blutplatten ebenso starke Hämolyse⁶⁾ wie z. B. bei dem Vibrio Nasik und anderen sicher von der Cholera verschiedenen Kommabazillen (s. o.). Rechnet man die El-Tor-Vibrionen zur echten Cholera⁷⁾, so haben wir also alle Möglichkeiten bei der Cholera vertreten. Die choleraähnlichen Vibrionen zeigen die gleiche Mannigfaltigkeit.

Auch in zahlreichen anderen Fällen hat die Blutagarmethode in der Hand Pribrams viel häufiger Hämolyse ergeben als die übliche Untersuchung in flüssigen Nährböden bzw. mit Filtraten. Bei der von diesem Forscher geübten reichlichen Beimpfung der Platten fehlt fast bei keinem Bakterium die Hämolyse, die sich freilich oft nicht in einer Hofbildung wie bei den Vibrionen, d. h. in einem (scheinbaren) Verschwinden des Farbstoffs oder wie bei verschiedenen Kokken in einer Farbenveränderung des Hämoglobins (s. u.), sondern in einem einfachen Lackfarbigwerden äußert. Beobachtung der Platten bis zum 3.—5. Tage ist dazu nötig. Während im allgemeinen die Hämolyse auf Agarplatten besser zu beobachten ist als in flüssigen Nähr-

1) Zentr. Bakt. 29, 1901.

2) Münch. med. Woch. 1904. 7.

3) Kolle-Wassermanns Handb. Erg.-Bd. 1, 1906. 291.

4) Hyg. Rundschau 1910. 4.

5) Auch in Agar mit Ziegenblut, wie Bürgers im Gegensatz zu Kraus hervorhebt.

6) Sie scheinen das hämolytische Vermögen aber auch in einzelnen Kulturen verlieren zu können.

7) Vgl. Erörterung in der 1. Tag. der Vereinig. f. Mikrobiol. (Zentr. Bakt. Ref. 38, Beil. S. 90) u. auf d. Naturf. Vers. Königsberg. 1910 Abt. 28.

böden, scheint das Umgekehrte zu gelten für *Streptokokken*, denn auch die Saprophyten unter ihnen bilden nach *Baumann* u. a. mehr Hämolyisin in den letzteren als in den ersteren, weswegen sich gerade die Blutplatten zur Unterscheidung der pathogenen von den nicht pathogenen (S. 997) besser eignen.

Man hat versucht, diese Hämolyse durch lebende Bakterien und namentlich in der Blutagarplatte als in ihrem Wesen verschieden von der Filtrathämolyse hinzustellen und sie durch Wirkung des lebenden Protoplasmas oder proteolytischer und anderer (lezythinspaltender) Enzyme¹⁾ zu erklären. Die letztere Annahme läßt sich aber nicht beweisen, wenn auch in vielen Fällen ein Parallelismus zwischen Gelatineverflüssigung und Hämolyse besteht, und die erstere ist nach den Erfahrungen, die wir bei Gärungsenzymen (Zymase) und vielen anderen Giften gemacht haben, überflüssig und unwahrscheinlich. Der Unterschied beruht unseres Erachtens hauptsächlich darauf, daß die Hämolyse der lebenden Bakterien ebenso wie die Zymase und manche Gifte viel vergänglicher sind als die hämolytischen Stoffe, die wir durch Filtration usw. von den lebenden Bakterien trennen können. Außerdem mögen sonst noch Unterschiede bestehen, aber solche finden sich auch, wenn man die Filtrathämolyse untereinander vergleicht.

Der Umstand, daß die Blutlösung auf Agar bzw. Gelatine viel deutlicher ist als die in flüssigen Kulturen, erklärt sich vielleicht einfach daraus, daß bei dem reichlichen Sauerstoffzutritt auf der Oberfläche fester Nährböden das Wachstum viel stärker zu sein pflegt, und man braucht wohl nicht auf enzymatische Wirkungen kolloidaler Stoffe (S. 1009) zurückzugreifen.

Daß die hämolytischen Höfe von den Kolonien auf Platten farblos erscheinen, liegt, wie *Zangemeister* mit Recht sagt, nicht daran, daß der Blutfarbstoff selbst nach der Lösung verändert wird, sondern sich auf dem übrigen Teil der Platte durch Diffusion gleichmäßig verteilt.

Die hämolytischen Wirkungen lebender Bakterien zeichnen sich vor denen der Filtrate ferner dadurch aus, daß die Blutkörper nicht bloß gelöst werden, sondern daß der gelöste Farbstoff auch vielfach weitere Veränderungen erfährt. Sehr auffällig ist das bei der viel studierten Hämolyse durch Strepto- und Pneumokokken.

Zuerst hat *Schottmüller*²⁾ darauf hingewiesen, daß man je nach dem Verhalten in Agar und Bouillon mit Menschenblut folgende Abarten unterscheiden könne: Der *Strept. longus* oder erysipelatis (d. h. pyogenes) bilde durch Lösung (oder Aufsaugung bzw. Zerstörung?) des Hämoglobins helle Höfe um seine Kolonien und verwandele die hellrote Farbe der Blutbouillon allmählich in Burgunderrot; der *Strept. mitis* oder *viridans* löse die Blutkörperchen nur schwach, bilde grüne Kolonien und bräune die Bouillon; der *Strept. mucosus* wachse in saftigen Kolonien, die in der Tiefe des Nährbodens dunkelgrün erscheinen, löse das Blut nur

1) Über Ammoniak- und Säurewirkungen s. u.

2) Münch. med. Woch. 1903. 20/21.

sehr langsam und färbe die Blutbouillon grünlich; der Pneumokokkus (*Strept. lanceolatus*) zeige für das bloße Auge überhaupt keine Hämolyse, bilde aber in der Umgebung seiner Kolonien und in Bouillon einen schönen grünen Farbstoff. Grünlich wächst auch oft der *Strept. lacticus* (Puppel a. a. O.) Über das eigentümliche Verhalten des *Tetragenus* siehe bei L o d e a. a. O. Wie alle diese Veränderungen erzeugt werden, ist noch unklar, vielleicht spielen saure und alkalische Stoffwechselprodukte dabei eine Rolle¹⁾. Die spektroskopische Prüfung ergibt, daß die burgunderrote Färbung durch Oxyhämoglobin, die braunrote durch Methämoglobin verursacht wird²⁾.

Kehren wir zu den am besten studierten Filtratlysinen zurück, so gibt es einige unter ihnen, deren starke Wirkung sich wahrscheinlich daraus erklärt, daß einfache Stoffwechselprodukte mit hämolytischer Kraft, insbesondere A m m o n i a k, den e c h t e n hämolytischen Giften beigemischt sind.

Man ist auf diesen Unterschied aufmerksam geworden durch den Umstand, daß die Kulturen (und Filtrate) des *B. coli* und *pyocyaneus* sowie des Typhusbazillus, abweichend von den übrigen Bakterien, das Vermögen, Blut zu lösen, nicht verlieren durch Erhitzen auf höhere Temperaturen, sondern es sogar noch beibehalten, wenn sie stundenlang bei 100° oder 120° gekocht werden. Gleichzeitig hat sich gezeigt, daß Neutralisierung ihrer stark alkalischen Kulturen die Hämolyse sehr stark herabsetzt³⁾. Da nun Ammoniak nachweislich von den Bakterien reichlich gebildet wird (Kap. IX) und schon in starken Verdünnungen Blutkörperchen löst (L u b e n a u), so ist wohl anzunehmen, daß mindestens ein großer Teil der Hämolysinwirkung bei den genannten Bakterien auf der Ammoniakbildung beruht⁴⁾. Es bleibt aber doch ein Rest von Wirkung übrig, der nicht anders als durch das Vorhandensein eines echten, aber hitzebeständigen Hämolysins erklärt werden kann (vgl. § 313). Daß die mehrfach für die Hämolyse verantwortlich gemachte Säurebildung nicht in Frage kommt, ist sicher (vgl. z. B. Z a n g e m e i s t e r und S a c h s).

Bei den meisten Hämolysinen ist von Kochfestigkeit so wenig die Rede, daß bei Tetanolysin Temperaturen von 50°, beim Staphylo- und Vibrionenlysin solche von 56° oder mindestens 65°⁵⁾, beim Diphtherielysin von 58°, beim Hühnercholeralysin von 70°, wenn sie 20 bis 30 Minuten einwirken, hinreichen, um die blutlösende Kraft zu ver-

1) B o x e r, Vortrag in der pathol. Abteil. der Naturforscher-Versamml. in Meran 1905 — bei P r i b r a m; R ü d i g e r, Journ. of inf. diseases. 1906.

2) R i e k e, Zentr. Bakt. 36, 1904.

3) Vgl. auch J o r d a n, Journ. of med. research. 10, 1903.

4) Vielleicht erklärt sich so die von A b b o t t und G i l d e r s - l e a v e u. a. (ebenda) gefundene Regel, daß bei saprophytischen Bakterien ein gewisser Parallelismus zwischen Hämolyse und Proteolyse besteht. Sind doch die eiweißspaltenden Bakterien gewöhnlich auch die stärksten Ammoniakbildner. Die Ausnahmen von der Regel (s. bei P r i b r a m) müssen auch in letzterer Beziehung noch genauer geprüft werden.

5) Abweichungen s. bei F r ä n k e l und B a u m a n n.

nichten. Das Hämolysin der Streptokokken wird dagegen erst durch zweistündige Erhitzung auf 70° zerstört. Das Megatheriolysin wird nach Dreyer und Blake (s. o.) zwar bei 56—60° unwirksam, gewinnt aber durch Erhitzen auf 100° seine ursprüngliche Kraft zum großen Teil wieder. Auch niedrigere Temperaturen und schon das Aufbewahren im Zimmer oder im Eisschrank schwächen die Gifte schnell ab, doch läßt sich das Staphylolysin durch Zusatz von Karbolglyzerinlösung länger wirksam erhalten.

§ 313. Hämolysine als spezifische Gifte. Die Reindarstellung dieser „echten“ Hämolysine ist noch nicht gelungen. Allerdings erhält man z. B. durch Fällung mit Ammonsulfat ein trockenes Tetanolysin, das sich ziemlich gut hält, aber eine Trennung der Lysinen von anderen Bakteriengiften, in diesem Fall von Tetanospasmin, macht bisher unüberwindliche Schwierigkeiten, weil die ersteren empfindlicher gegen alle chemischen Eingriffe zu sein pflegen als die letzteren. Daß sie aber als besondere, voneinander und von den übrigen Giften verschiedene, in ihrem Bau freilich den letzteren ähnliche Stoffe zu betrachten sind, kann nach den Erfahrungen Ehrlich und Madsen mit dem Tetanolysin (s. o. S. 994) und ähnlichen anderer Forscher nicht bezweifelt werden. Wichtig ist vor allem neben der Absorption durch Blutkörper die Möglichkeit, mit den einzelnen Hämolysinen spezifische Antitoxine zu erzeugen.

Sie ist nachgewiesen für das Hämolysin der Tetanusbazillen (Ehrlich und Madsen), Staphylokokken (Neißer und Wechsberg), des Streptococcus lanceolatus (Casagrandi), des Typhusbazillus (E. und P. Levy, Castellani), Dysenteriebazillus (Castellani), Colibazillen (Kayser) und Vibrionen (Kraus, Meinecke u. a.), der Bac. Megatherium (Todd). Unter Umständen, aber keineswegs immer (Staphylokokken), gelang die Immunisierung auch mit Filtraten, die ihre hämolytische Kraft im Reagensglas, z. B. durch Altern, verloren hatten. So stellten Tizzoni und Centanni¹⁾ das fest für Tetanus. Volk und Lipschütz²⁾ für Vibrionen. Man wird daraus auf das Vorhandensein von Lysinoiden (Hämotoxoiden), die zwar ihre giftige, aber nicht ihre bindende bzw. immunisierende Fähigkeit verloren haben, in den Kulturen schließen dürfen. In demselben Sinne sprechen die Bindungsversuche Madsens, Neißers und Wechsbergs im Reagensglas (vgl. dazu § 275).

Das Blutserum der mit den genannten Kulturen behandelten Tiere bewirkt in mehr oder weniger beträchtlichem Maße Hemmung der Hämolyse, z. B. neutralisierte das Serum von Hunden, die innerhalb zwei Wochen bis zu 20 ccm einer bei 56° abgetöteten Typhuskultur unter die Haut gespritzt erhalten hatten, in einer Gabe von 0,025 ccm die doppelte vollständig lösende Menge des Typhusfiltrats, während normales Hundeserum ganz unwirksam war. Die Immunisierung gegen das allgemeine Gift aller dieser

1) Riforma medica 1900. 2. 1—3.

2) Zentr. Bakt. 34, 1903.

Bakterien hat dagegen, wenn wir vom Tetanus absehen, höchstens zu zweifelhaften Ergebnissen geführt (§ 285 ff.), ein Beweis, daß die Hämolyse mit den anderen Giften nichts zu tun haben. Mit dem Hämolysin der Diphtherie-, Pyocyaneusbazillen und Streptokokken ist es bisher nicht gelungen, spezifisch schützende Sera zu erzeugen, das berechtigt uns aber noch nicht, die Bildung spezifischer Hämolysine für diese Bakterien zu leugnen. Die näheren Verhältnisse dieser Gifte sind noch nicht ganz klar, aber wir kennen doch schon manche wichtige Tatsachen. So fand Wein-geroff, daß die Giftigkeit der Pyocyaneuskulturen mit ihrer hämolys-tischen Wirkung parallel geht, daß aber durch Bindung an rote Blutkörper-chen oder Verdauung mit Pankreas- und Magensaft das Hämolysin ent-fernt werden kann, während die allgemeine Giftigkeit davon nicht be-rührt wird. Was das Streptolysin anlangt, so scheinen die Reagensglas-versuche Schlesingers zu beweisen, daß die Streptokokken auch Lysinoide bilden, indem durch Bindung unwirksam gewordenes Strepto-lysin die Blutkörperchen vor der Auflösung durch wirksames Gift schützt; das Diphtherielysin schließlich muß verschieden sein von dem Diphtherietoxin, weil Diphtherieheilserum zwar das Toxin neutralisiert, aber nicht das Lysin.

Der Vergleich der Hämolysine untereinander ergibt in vielen Fällen (s. o.) schon dadurch eine Verschiedenheit, daß die einzelnen Blutkörper-arten in ungleicher Weise von ihnen beeinflusst werden. Aber auch mit Hilfe der antilytischen Sera ist eine Trennung möglich. Neißer und Wechsberg haben so gefunden, daß gegen Tetanolysin wirksames Tetanusserum Staphylolysin nicht stärker beeinflusst, wie normales Pferde-serum oder Schweinerotlaufserum, also Tetanolysin mit Staphylolysin nicht identisch sein kann. Andererseits haben Kraus, Pribram und Prantschoff¹⁾ wahrscheinlich gemacht, daß die Hämolysine von zahlreichen Vibrionen — darunter auch die bekannten El-Tor-Cholera-vibrionen —, die sich durch andere Eigenschaften (z. B. ihr Verhalten im agglutinierenden Serum) unterscheiden lassen, gleiche Antilysine er-zeugen, also wohl identisch sind²⁾.

Gegenüber den Krauschen Erfahrungen, die für eine weitgehende Übereinstimmung von Lysinen verschiedenen Ursprungs sprechen, be-sitzen wir in Wechsbergs³⁾ Versuchen über das Staphylolysin Beweise dafür, daß selbst das von einem und demselben Bakterium stammende Hämolysin eine verwickelte Zusammensetzung haben kann. Wechsberg, der verschiedene Tiere mit Staphylolysin immunisiert hatte, fand, daß bei Benutzung verschiedener Blutkörperarten die Immunserummenge, die 1 ccm des Staphylolysin neutralisierte, folgende Werte annahm:

	Ziegen- serum	Kanin- chenserum	Hunde- serum	Pferde- serum
Kaninchenblutkörper	0,2 ccm	0,78 ccm	0,2 ccm	0,2 ccm
Hammelblutkörper	0,1 „	1,56 „	0,2 „	0,025 „
Ziegenblutkörper	0,0025 „	1,25 „	0,02 „	0,04 „
Hundeblutkörper	0,06 „	0,25 „	0,25 „	1,0 „

1) Zentr. Bakt. 41. 377. 480, 1906.

2) Das gleiche gilt für die akuten Toxine dieser Gruppe (§ 285).

3) Zentr. Bakt. 34. 849, 1903.

Ohne Serumzusatz löste 1 ccm des Staphylolysin 10 Tropfen Kaninchenblut, 100 Tropfen Hammelblut, fast einen Tropfen Ziegenblut und 2 Tropfen Hundeblood. Eine Erklärung dieser Zahlen scheint ganz unmöglich, wenn wir annehmen, daß das Hämolyisin ein einheitliches Gift ist, das nur in verschiedenen Mengen von den roten Blutkörperchen der einzelnen Tiere gebunden wird, aber einen einheitlichen Immunkörper erzeugt, denn in diesem Falle müßte die Reihenfolge der Blutkörper immer dieselbe sein. Der Augenschein lehrt das Gegenteil. Man wird die Tatsachen eher dahin deuten können, daß das Gesamthämolyisin der Staphylokokken aus verschiedenen Teillysinen zusammengesetzt ist, die mit ungleicher Kraft von den Blutkörpern gebunden werden und bei den einzelnen Tieren verschiedene Immunkörper erzeugen. Doch können hier nur genaue Bindungsversuche Klarheit schaffen.

§ 314. Der Vorgang der Hämolyse. Wir kommen jetzt zu einer Reihe anderer Untersuchungen, die sich mit der näheren Aufklärung des Vorgangs der Hämolyse, ihrer Hemmung und Begünstigung durch nichtspezifische Einflüsse beschäftigen. Gerade mit den Hämolyisinen hat man mehr wie mit anderen Bakteriengiften gearbeitet, weil die Versuche im Reagensglas ausgeführt werden können.

Schon Ehrlich fand, daß das Hämolyisin sich durch die Behandlung von Tetanusfiltraten durch rote Blutkörperchen ausziehen läßt, d. h. an sie gebunden wird. In zahlreichen anderen Fällen wurde der Satz, daß ohne Bindung keine Hämolyse erfolgt, bestätigt, andererseits nachgewiesen, daß die Bindung allein noch keine Hämolyse bewirkt. So besitzen unwirksam gewordene Filtrate (Lysinoide s. o. S. 1004) Bindekraft. Und so haben die roten Blutkörper nach Neisser und Wechsberg nicht bloß die Fähigkeit, hämolytisches Gift, sondern auch Leukozidin (§ 317) zu binden, während umgekehrt die weißen Blutkörperchen nur das letztere an sich ketten, nicht das erstere.

Die Menge des Staphylo- und Vibriolysins, die durch die Blutkörper des Kaninchens bei veränderlichem Zusatz von überschüssigem Lysin gebunden wird, haben Volk¹⁾ und Schur²⁾ bestimmt. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß bei gleichbleibender Menge die Blutkörper ein Vielfaches der einfachen lösenden Gabe absorbieren; und zwar wächst die absolute Absorptionsgröße mit der zugegebenen Lysinmenge beständig, während die relative fällt. Die Bindung erfolgt zum größten Teil bei nicht zu niedriger Temperatur schon in den ersten Minuten der Berührung, und zwar um so schneller, je mehr Lysin zur Verfügung steht.

Es ist nicht etwa das Hämoglobin, das sich mit dem Lysin verbindet, sondern das Protoplasma (Stroma, Gerüst) der roten Blutkörperchen

1) Zentr. Bakt. 34. 843. 1903.

2) Hofmeisters Beitr. 3, 1903.

(Volk und Lipschütz¹⁾). Denn wenn man rote Blutkörperchen in destilliertem Wasser auflöst, eine geringe Menge Kochsalz zusetzt und die Blutschatten ausschleudert, beeinflussen nur sie eine Hämolyse-lösung, nicht die darüberstehende gefärbte Flüssigkeit.

Zu seinen ausführlichen Versuchen über das Staphylolysin benutzte Schur, wie schon früher Madsen, als Maß der Hämolyse die kolori-metrische Bestimmung mittelst des Hämometers von Fleischl²⁾: die Blutlösung wird zu dem Behufe zentrifugiert, abgehoben und unter Umständen noch einmal zentrifugiert. Sind die Blutkörper gut agglutiniert, wie es häufig der Fall, so ist das Ausschleudern überflüssig. Die Färbekraft der Hämolyse-lösung hält sich gut, wenn Bakterien ferngehalten werden. Schur unternahm zunächst eine Reihe von Versuchen, in denen er einerseits die Lysinmenge, andererseits die Blutmenge, die er zu je 5 ccm 0,85% Kochsalzlösung setzte, veränderte. Nach 24 Stunden erhielt er z. B. in einem Versuch, in dem die Blutmenge wechselte, folgende Hämolyse-mengen (in Fleischlzahlen):

0,5 Tropfen Lysin löst aus 1 Tropfen Blut	85, also auf jeden Tropfen	85
0,5 " " " " 2 " " 120, " " " "		60
0,5 " " " " 4 " " 153, " " " "		38
0,5 " " " " 8 " " 190, " " " "		21
0,5 " " " " 16 " " 170, " " " "		11

In einem zweiten Versuch, in dem die Lysinmenge wechselte, ergab sich: aus 8 Tropfen Blut lösten 0 Tropfen Lysin 40 Fleischl (Kontrolle)

" 8 " " " 0,1 " " 50 " also auf 0,1 Tropf.	20
" 8 " " " 0,2 " " 80 " " " 0,1 "	20
" 8 " " " 0,4 " " 123 " " " 0,1 "	21
" 8 " " " 0,8 " " 200 " " " 0,1 "	20
" 8 " " " 1,0 " " 230 " " " 0,1 "	19
" 8 " " " 2,0 " " 290 " " " 0,1 "	12,5
" 8 " " " 4,0 " " 350 " " " 0,1 "	7,75

Aus diesen und ähnlichen Versuchen folgen zwei Sätze:

1. Die Menge des nach 24 Stunden von einer und derselben Lysin-menge gelösten Hämoglobins wächst mit der Blutmenge absolut genommen, doch nur bis zu einem bestimmten Punkte, von dem aus eine Abnahme erfolgt. Die relative Lösungsmenge sinkt dabei stetig.
2. Die Lösungskraft steigender Lysinmengen auf die gleiche Blut-menge steigt bei den kleinsten Mengen für die Lysineinheit zuerst stark an, bleibt bei mittlerer Gabe ziemlich beständig‘ um bei größeren wieder abzufallen.

In einer weiteren Versuchsreihe studierte Schur den zeit-lichen Ablauf der Hämolyse.

Es fand sich z. B. folgende Hämoglobinmenge gelöst, wenn 8 Tropfen Blut mit Lysin 11 Tage lang bei Zimmertemperatur (in 5 ccm Kochsalz-lösung aufgeschwemmt) in Berührung blieben.

1) Wien. klin. Woch. 1903. 50.

2) Statt des ihm beigegebenen Kapillarpipette wendet man hier Pipetten von 1 ccm Inhalt an, die in 1/100 ccm geteilt sind.

0 Lysin löste nach 1 Tag	30, n. 3 T.	30, n. 5 T.	30, n. 8 T.	30, n. 11 T.	60
0,1 „ „ „ „ „	27, „ „	87,5, „ „ „	117, „ „ „	180, „ „ „	220
0,5 „ „ „ „ „	184, „ „	220, „ „ „	260, „ „ „	320, „ „ „	552
1,0 „ „ „ „ „	290, „ „	320, „ „ „	380, „ „ „	510, „ „ „	550
2,0 „ „ „ „ „	400, „ „	400, „ „ „	480, „ „ „	570, „ „ „	590

Es folgt aus diesen Versuchen:

3. daß die Blutkörper in Kochsalzlösung ohne Lysin zunächst ihr Hämoglobin festhalten, es später aber doch abgeben. Schließlich erfolgt sogar vollständige Lösung, ohne daß Bakterien dabei ins Spiel kommen. Diese Spontanhämolyse ist vielleicht der Autolyse anderer Zellen vergleichbar.

4. Das Staphylolysin löst, je länger es mit den Blutkörpern in Berührung bleibt, um so mehr Hämoglobin; die Steigerung ist um so deutlicher, je geringer die Lysinmenge ist; bei kleinen Lysinmengen geht der Lösung eine *Wartezeit* vorher, die in obigem Beispiel noch bei 0,1 ccm Lysin mehr als 24 Stunden betrug. Schon *Madsen* hat bei dem Tetanolysin eine solche allerdings kurze „*Latenzzeit*“ beobachtet.

Schur schließt aus diesen Untersuchungen, daß das *Bakterienhämolyisin* ähnlich einem *Enzyme* wirke. Auch bei Zersetzung des Rohrzuckers und Amygdalins durch Invertin und Emulsin wachse die absolute Menge der durch gleiche Enzymmengen aus wachsenden Stoffmengen umgewandelten Stoffe bis zu einer gewissen Grenze und sinke die relative Menge. Auch der zeitliche Verlauf sei ein ähnlicher. Die *Ostwaldsche* Auffassung der Katalyse als Beschleunigung eines auch freiwillig, aber langsam vor sich gehenden Vorgangs finde in der Hämolyse eine Stütze, da sie auch freiwillig vor sich gehe.

Zu einer anderen Auffassung gelangten *Arrhenius* und *Madsen*¹⁾ bei Prüfung des Vorgangs der Blutlösung durch Tetanolysin.

Es ergab sich nämlich, daß die Hämolyse bei Zunahme der Hämotoxinmenge ungefähr proportional ist dem Quadrate der Hämotoxin-konzentration. Mit einigen durch besondere Verhältnisse bedingten Abänderungen soll dasselbe Gesetz auch für die Blutlösung durch Alkalien gelten²⁾. Die gelöste Blutmenge hätte ferner nach Rechnung der Verfasser dem Quadrat der Reaktionszeit und dem Quadrat der Toxinmenge proportional sein sollen, war aber bei einer bestimmten Beobachtungsdauer nur der einfachen Toxinmenge proportional. Ein Steigen der Temperatur erhöhte die Reaktionsgeschwindigkeit in etwas geringerem Grade als bei anderen chemischen Prozessen. Die stärkste Hämolyse erfolgt bei Tetanus-, Staphylokokken-, Streptokokken- und Vibrionentoxinen ungefähr bei 35°, doch kommen Abweichungen nach unten vor (*Madsen* und *Walbum*³⁾).

1) Zeitschr. physikal. Chem. 44, 1903.

2) Vgl. dagegen die Einwendungen *Köppes* (*Pflügers Arch.* 103) und bei *Pribram*.

3) Acad. roy. d. scienc. et des lettres de Danemark 1904. Nr. 6.

Außer durch die Temperatur erzielt man eine erhebliche Steigerung der Blutlösung durch Zufügung geringer Mengen kolloidalen Silbers (Hamburger¹⁾ und Herman), während größere Mengen sie hemmen (vgl. § 274). Ob andere Kolloide ähnlich wirken, ist zweifelhaft, selbst von dünnen Eiweißlösungen hat man nur hemmende Wirkungen beobachtet (Arrhenius und Madsen). Salzlösungen sollen nach denselben Forschern in kleinen Mengen keinen Einfluß ausüben, bei etwas größeren die Wirkung verstärken, in starker Konzentration aber nach Volk und Lipschütz²⁾ wieder deutlich hemmen. Schwache Alkalien, von denen man eine Verstärkung der Wirkung erwarten sollte, üben eine solche nach Arrhenius und Madsen nicht aus. Normales Blutserum hemmt auch in erhitztem Zustand nach vielen Erfahrungen die Hämolyse durch Bakterienstoffe und manchmal auch die durch lebende Bakterien. Vom Pferdeserum genügt manchmal schon 0,01 ccm, um eine lösende Gabe des Staphylolysin zu neutralisieren. Zum Teil beruht das nach Arrhenius' und Madsens Beobachtungen am Tetanolysin auf dem Eiweißgehalt. P. Th. Müller³⁾ leugnet wohl nicht ganz mit Recht diesen Einfluß, beweist aber die schon von Noguchi⁴⁾ ausgesprochene Vermutung, daß den im Serum enthaltenen Lipoiden (vgl. § 274), und zwar dem Cholestearin, mindestens eine wichtige Bedeutung zukomme; der alkoholische Extrakt des Serums war sogar stärker antilytisch gegenüber Tetanolysin als das Serum. Lecithin ist dagegen unwirksam (Pribram). Wahrscheinlich bestehen aber Unterschiede bei den einzelnen Lysinen, denn nach v. Eisler⁵⁾ hemmt der Ätherextrakt aus roten Blutkörperchen zwar die Kraft des Tetanolysins sehr stark, die des Vibrionenlysin aber schon schwächer und die des Staphylolysin überhaupt kaum⁶⁾. Neben diesen Hemmungskörpern muß man dem Normalserum noch einen Gehalt an echten Antilysinen zuschreiben, die den spezifischen Lysinen vergleichbar, vielleicht sogar mit ihnen identisch sind. Denn nach Kraus und Lipschütz⁷⁾ wirken sie unter Umständen (Pferdeserum gegenüber Staphylolysin) ebenso schnell und auch nach dem Gesetz der Multipla

1) Osmotischer Druck und Ionenlehre in der Medizin Bd. 3.

2) Zentr. Bakt. 34, 1903.

3) Ebenda.

4) Ebenda 32, 1902.

5) Wien. klin. Woch. 1905; vgl. auch Landsteiner u. v. Eisler ebenda 1904. 24 u. Pribrama. a. O. (Kolle-Wassermann) S. 297.

6) Über die verwickelte Zusammensetzung der Ätherextrakte s. bei Bang und Forßmann, Hofmeisters Beitr. 8, 1906.

7) Zeitschr. f. Hyg. 46.

und vermögen ebenso, wie das *Madsen* für sein Tetanusserum fand, bereits vergiftete Blutkörper vor der Auflösung zu schützen. Nur die Intensität der Wirkung ist meist geringer als die der Immunsera.

Von diesen letzteren haben wir schon an anderer Stelle (S. 883 u. 1004) gesprochen.

Über den Vorgang, durch den die Hämolyse, d. h. die Trennung des Hämoglobins von dem Gerüst des Blutkörperchens erfolgt, wissen wir ebensowenig Sicheres, wie bei andern Blutgiften, vor allem schon deswegen, weil uns auch der Bau der Blutzellen, der Zusammenhang des Hämoglobins mit denselben noch eine große Unbekannte ist. Man könnte an eine physikalische Einwirkung auf das Gerüst der Blutkörperchen, die dieses zur Quellung oder zur Auflösung bringt, wie destilliertes Wasser oder andere hypotonische Lösungen und Fettlösungsmittel, oder an eigentliche chemische Einflüsse auf die eiweiß- und fettartigen Bestandteile der Zelle (Nukleoproteid und -albumin, Cholestearin, Lezithin usw.) denken. Beziehungen zwischen der proteolytischen und hämolytischen Wirksamkeit der Bakterien sind zwar öfters vorhanden, aber nicht regelmäßig genug (S. 1003). Neuerdings sind die Beziehungen der Hämolyse zu den Lipoidstoffen der Blutkörper mehr in den Vordergrund getreten. Über Vermutungen kommen wir aber bisher nicht hinaus¹⁾.

Über die agglutinierende Wirkung mancher Hämolyse und die „Hämatolyse“ v. *Lingelsheims* werden wir später sprechen (§ 316).

§ 315. Hämolytische Wirksamkeit der Kleinwesen im Tierkörper. Weil die Hämolyse auch im Reagensglas wirken, liegt es nahe, die dabei gewonnenen Erfahrungen auf die Vorgänge im Tierkörper zu übertragen. Wir begegnen dabei freilich erheblichen Schwierigkeiten.

Daß bei Infektionen und infektiösen Vergiftungen die roten Blutkörperchen vielfach der Zerstörung anheimfallen, ist sicher, zweifelhaft aber, wieweit dies auf einer echten Hämolyse und namentlich auf einer blutlösenden Tätigkeit der Krankheitskeime beruht. Die Anämie und Hämoglobinurie im Verlauf der natürlichen Infektion, einschließlich der Bluterkrankungen durch Protozoen, besprechen wir in der „Infektionslehre“, hier sollen uns nur die experimentellen Erfahrungen, die man bei den Tierversuchen mit Bakterien gemacht hat, beschäftigen. Anämien im Gefolge von chronischen bakteriellen Infektionen oder Vergiftungen²⁾ sind jedem

1) Vgl. bei *Pribram* a. O. S. 294; ferner *Hamburger* a. O., Bd. I—III, *Köppe*, *Pflügers Arch.* 107; *Passini*, *Hofmeisters Beitr.* 6, 1905; s. auch die Untersuchungen über die Serumhämolyse.

2) Bei wiederholter Einspritzung von schwach virulenten Colibazillen sah z. B. *Charlton* (*Journ. med. research.* 8 nach *Pribram*) eine Veränderung der Blutkörperzahl von 5 auf 1 Million eintreten.

Experimentator bekannt, auch die Anhäufung von aus Blutfarbstoff hervorgegangenem Pigment in der Milz ist leicht, z. B. bei Pneumokokkeninfektion in größtem Maßstabe, zu beobachten. Die ersten ausführlichen Mitteilungen über die Wirkung der löslichen Stoffe von Typhus-, Milzbrand-, Pyocyaneus-, Cholera Bakterien und Staphylokokken verdanken wir Bianchi-Mariotti¹⁾. Entsprechend der eingespritzten Menge nimmt der Hämoglobingehalt des Blutes ab. Gleichzeitig aber erfolgen Veränderungen der Isotonie, und zwar bemerkenswerterweise eine Steigerung nach mittleren Gaben (3—6 ccm auf das kg Körpergewicht), ein Abfall erst nach größeren. Wiederholte kleine Mengen haben geringeren Einfluß. Von Hämoglobinurie wird nichts berichtet. Auch Kraus und Ludwig²⁾, die nur mit kräftigen Hämolytinen (von Staphylokokken und Vibrio Nasik) arbeiteten, beobachteten nur Verringerung des Hämoglobingehaltes, konnten allerdings durch Immunsrum die Blutschädigung verhindern. Todd (s. o. S. 998) sah nach Einspritzung von Megatheriolysin ins Blut auch Hämoglobin im Blut gelöst und im Harn ausgeschieden. Daß unter Umständen die Einwirkung des Staphylolysin auch als Hämolyse bemerkbar wird, fand Schur³⁾, aber sie tritt erst einige Zeit nach der Entnahme des Blutes aus den Gefäßen als „Nachhämolyse“ auf. Nach seiner Ansicht wären selbst kleine Gaben des Staphylolysin im Körper der Versuchstiere wirksam, indem sie wie ein Ferment wirkten (s. o. S. 1008); das dabei in Spuren freiwerdende Hämoglobin würde aber in der Leber zu Gallenfarbstoff verwandelt und deshalb nicht im Blute als solches erkenntlich, während das noch an den Blutkörpern haftende Hämolysin sie nachträglich im Reagensglas löse. v. Wunschheim⁴⁾ stellte dann in genauen Versuchen an Kaninchen fest, daß nach Einspritzung großer Mengen von Staphylolysin dasselbe schon nach 10—20 Minuten nicht mehr frei im Serum vorhanden, sondern an die roten Blutkörperchen gebunden sich vorfindet, so daß Nachhämolyse eintritt. Vergleiche zeigten, daß im Reagensglas die Bindung des Hämolytins nicht entfernt so schnell und vollständig eintritt. Ob bei der schnellen Bindung im lebenden Körper auch andere Organzellen beteiligt sind, wurde nicht geprüft. Weitere Versuche bewiesen, daß die intravenöse Einspritzung großer Mengen von Staphylolysin — aber auch nicht immer — eine echte Hämoglobinurie verursacht, während subkutane oder intraperitoneale Einverleibung nur Nachhämolyse bewirkt. Bei immunisierten Tieren blieb die letztere selbst nach intravenöser Einführung aus. Der Antikörper scheint ausschließlich im Blutserum vorhanden zu sein und nicht in den Blutkörpern, denn die letzteren allein erwiesen sich gegenüber dem Lysin gleich empfindlich wie normale.

Umfangreiche Erfahrungen liegen vor über das Vorkommen der Hämolyse nach Infektion mit lebenden Erregern, doch sind die älteren insofern nicht einwandfrei, als nicht sorgfältig genug zwischen

1) Wien. med. Presse 1894. 36 (Baumgartens Jahresber.).

2) Wien. klin. Woch. 1902. 15.

3) Hofmeisters Beitr. 3. 117, 1903.

4) Arch. f. Hyg. 54. 199, 1905, mit Lit.; vgl. auch Münch. med. Woch. 1903. 26.

Hämoglobinurie und Nachhämolyse unterschieden worden ist. Mit einem gewissen Recht erhebt v. W u n s c h h e i m den gleichen Einwand gegen einen Teil der am Menschen gemachten Befunde. Seine eigenen Versuche führten zu folgenden Ergebnissen. Es sind drei Fälle zu unterscheiden. Eine erste Gruppe von Infektionen (mit Streptokokken¹⁾, Pyocyaneus, Hühnercholera²⁾, Coli- und Typhusbazillen) zeigt im Augenblick des Todes, also auf der Höhe der Infektion, keine Blutlösung, wohl aber eine Nachhämolyse.

Beim Milzbrand und bei schweren, schnell verlaufenden Staphylokokkeninfektionen tritt dagegen die Schädigung des Blutes, allerdings auch erst kurze Zeit vor dem Tode und meistens nur in einer Nachhämolyse, hervor, beim Tode selbst pflegt also das Blut Hämoglobin gelöst zu enthalten. Hämoglobinurie fehlt stets, auch beim Tode.

Bei einer dritten Gruppe von Infektionen (Pneumokokken-septikämie, gewöhnliche Staphylokokkenpyämie, Tetanus³⁾) wird Hämolyse überhaupt, auch nach dem Tode, nicht bemerkbar.

Diese Versuchsergebnisse, die einwandfrei gewonnen scheinen, aber natürlich noch nicht als abgeschlossen zu betrachten sind, lassen sich nicht ohne weiteres aus den Erfahrungen, die über die Hämolyse im Reagensglas gewonnen sind, deuten. Auffällig ist sicher die Tatsache, daß der Tetanusbazillus, der außerhalb des lebenden Körpers das kräftigste Hämolysin erzeugt, im lebenden dazu nicht imstande ist, und daß umgekehrt der Milzbrandbazillus, in dessen Kulturen es nur mit Mühe und Not gelingt, Hämolyse nachzuweisen, im Tier der am ausgesprochensten wirksame ist. Nebenbei bemerkt ist dieser letztere Bazillus einer der wenigen, bei dem bisher trotz aller Bemühungen die Suche nach allgemeinen Giften vergeblich gewesen ist. Jedenfalls ersieht man aus diesen und aus den oben berichteten Versuchen über die Wirkungen des Staphylolysins im lebenden Körper, daß man mit der Verallgemeinerung der im Reagensglas erhaltenen Funde vorsichtig sein muß. Man hat sich, um sich mit den Tatsachen abzufinden, zweierlei Fragen vorzulegen. Ist zunächst die Hämolyse, die man bei der In-

1) Andere Angaben bei Bordet, Annal. Pasteur 1897; v. Lingelsheim, Ätiol. und Ther. der Streptokokken inf. (Behrings Beitr. z. exp. Ther. 1900); Besredka, Annal. Pasteur 1901; Marmorek, Berl. klin. Woch. 1902; v. Bardleben, Arch. f. Gynäk. 83 (vgl. auch Hämagglutinine § 316). Simon, Zentr. Bakt. 35 sah keine Hämolyse bei Tieren, die mit Filtraten vergiftet waren, wohl bei infizierten nach dem Tode.

2) Bei Tauben und Hühnern ist das Blutplasma manchmal schon beim Tode hämoglobinhaltig.

3) Bei Infektionen mit Gartenerde wurde gelegentlich Hämolyse beobachtet, die wahrscheinlich auf Mischinfektion beruhte.

fektion im Tiere beobachten kann, überhaupt auf hämolytische Stoffe der Bakterien zurückzuführen, oder ist sie anders zu erklären, z. B. etwa, wie die Versuche Bianchi-Mariottis (s. o.) denken ließen, durch Änderungen der Isotonie des Blutes. v. Wunschheim hat es für den Milzbrand wahrscheinlich gemacht, daß diese Möglichkeit wohl nicht in Betracht kommt, indem er einerseits den Chlorgehalt des Blutes bei infizierten und nicht infizierten Tieren verglich und andererseits das Blutserum infizierter Tiere auf normale Blutkörperchen wirken ließ. Eine andere Erklärung, die auf die Bildung von Antihämolysinen hinausläuft, ist nicht genügend gestützt.

Die von Pribram (a. a. O.) dafür angeführten Beobachtungen Casagrandis¹⁾ sind kein Beweis. Wenn dieser Forscher nämlich fand, daß ein Milzauszug von gesunden und mit Milzbrand infizierten Tieren rote Blutkörperchen gesunder Tiere nicht löst, wohl aber die von Milzbrandtieren, so spricht das im Gegenteil dafür, daß diese letzteren mit Milzbrandhämolysin vergiftet sind. v. Wunschheim sah die Blutkörperchen eines Milzbrandtieres sich schon in physiologischem Kochsalzwasser lösen.

Wir haben also vielleicht beim Milzbrand und noch mehr bei der Staphylokokkenkrankung ein Recht, die Hämolyse im Tierkörper auf Bakterienhämolysin zurückzuführen. Die mangelhafte Nachweisbarkeit des Milzbrandlysins würde dann eine Parallele haben in dem Mißlingen der Versuche, ein allgemeines Milzbrandgift nachzuweisen. Gerade beim Milzbrand, bei dem die Bazillen ja selbst in die Blutbahnen eindringen können, wäre übrigens am ehesten die hämolytische Fähigkeit auf Blutplatten, die nach Pribram eine ausgesprochene ist, zur Erklärung heranzuziehen. Es ist aber auch nicht unmöglich, daß bei den infektiösen Anämien, die ohne nachweisbaren Austritt von Hämoglobin verlaufen, das Hämolysin nicht unbeteiligt ist (s. o. Schur, Kraus und Ludwig). Der Beweis wird freilich, solange eine Trennung des Hämolysins von anderen Bakteriengiften im Tierkörper nicht möglich ist, kaum zu führen sein. Es ist ja denkbar, daß auch auf andere Weise, z. B. durch mangelhafte Tätigkeit der blutbildenden Organe, die ihrerseits durch andere Gifte bewirkt wird, eine Schädigung der roten Blutkörper zustande kommt, durch die ihre Empfindlichkeit gegen normale Einflüsse gesteigert wird.

§ 316. Hämagglutinine der Bakterien. Es ist von verschiedenen Seiten nachgewiesen worden, daß die Bakterien auch Hämagglutinine, d. h. Blutkörper zur Verklebung bringende Stoffe bilden

1) Anm. 1, auf S. 999.

(K r a u s und L u d w i g ¹⁾, V o l k ²⁾, P e a r c e und W i n n e ³⁾, G u y o t ⁴⁾).

Am vollständigsten sind die Versuche des letzten Forschers. Er prüfte 18 Stämme des Bact. coli, 4 des Typhusbaz., 2 des Staphylococcus pyogenes, je einen des Pneumo- und Meningococcus zunächst, indem er je eine Öse des Bakterienbelags in 1 ccm des Kondenswassers der Agarkulturen aufschwemmte und gleiche Teile davon mit einer 5 prozentigen Aufschwemmung gewaschener Blutkörperchen in Kochsalzlösung im hängenden Tropfen zusammenbrachte. Binnen 5 Minuten trat eine Agglutination ein, aber nur bei 12 Colistämmen, und auch gegenüber diesen reagierten nicht die Blutkörper aller daraufhin untersuchten Tierarten gleichmäßig, sondern bald diese, bald jene in mehr oder weniger ausgesprochenem Grade. Die Blutkörper verschiedener Individuen derselben Art verhielten sich aber annähernd gleich. Die Reaktion der Aufschwemmungsflüssigkeit bedingte auch keine wesentlichen Unterschiede, ebenso zeigte sich die Agglutination, wenn man Bouillonkulturen oder Aufschwemmungen der Bakterien in Kochsalzlösung u. dgl. verwandte. Das Verklebungsvermögen haftete aber stets den Bakterienleibern selbst an und ging nicht in das Filtrat über. Erhitzung auf 60—80° zerstörte es, nicht Behandlung der Leiber mit 10% Formalinlösung. Danach will Guyot nicht von löslichen Stoffen sprechen, die den Bakteriolytinen an die Seite zu stellen seien. Wahrscheinlich ist dieses Ergebnis aber nur der Versuchsanordnung des Verfassers zu verdanken. Daß die Agglutinine auch aus den Bakterienleibern abgegeben werden, folgt aus eigenen Versuchen Guyots, die auch in anderer Beziehung bemerkenswert sind. Wurde eine agglutinierende Aufschwemmung 1 Stunde lang mit viel roten Blutkörpern einer bestimmten Art behandelt, so verlor sie die Fähigkeit, Blutkörperchen derselben und auch anderer Arten zu verkleben. Verfasser schließt daraus auf die Einheit der Agglutinine bei der gleichen Bakterienart. Die anderen Forscher sahen übrigens Agglutination auch in Filtraten, z. B. von Staphylokokken, erscheinen. Um sie nachzuweisen, muß man nach Volk nur die Kulturfiltrate in Gaben anwenden, die keine vollständige Hämolyse hervorrufen. Pearce und Winne fanden, daß die Fähigkeit der Bakterienfiltrate, Agglutination zu erzeugen, dadurch gesteigert wird, daß man die Keime in Blutnährböden wachsen läßt. Alle Forscher sind darin einig, daß die Bakterienagglutinine von den Lysinen verschieden seien.

Nach Pearce und Winne bewirken dieselben Filtrate auch bei Hunden und Kaninchen Lebernekrose und hyaline Thromben in der Leber und anderen Organen, deren Entstehung aus zusammengebackenen roten Blutkörperchen übrigens auch von anderer Seite (Boxmayer, Mallory vgl. S. 944 Anm. 4) angenommen wird.

1) Wien. klin. Woch. 1902. 5.

2) Zentr. Bakt. 34. 844.

3) Americ. Journ. of the medic. sciences Oktober 1904 (bei Pribram in Kolle-Wassermanns Handb. 1. Erg.-Heft S. 430).

4) Zentr. Bakt. 47. 640, 1908.

Nicht eine bloße Agglutination, sondern Verschmelzung und Zerstörung der roten Blutkörper unter Auflösung des Farbstoffs, „Hämatolyse“ beobachteten v. Lingelsheim, Bordet und namentlich v. Bardeleben¹⁾ innerhalb und außerhalb des Tierkörpers unter dem Einfluß von Streptokokken.

§ 317. **Leukozidine.** Den Hämolysinen und Agglutinininen schließen sich die Bakterienleukozidine an. Van de Velde²⁾ hat zuerst in den Exsudaten, die durch Einspritzung von virulenten Staphylokokken in die Bauchhöhle von Kaninchen erzeugt wurden, ein sehr kräftiges Vermögen, die weißen Blutkörperchen zu schädigen, aufgefunden. Schon in dem Exsudat selbst sind die Leukozyten sichtlich entartet, bringt man etwas von dem Exsudatserum mit frischen Leukozyten³⁾ des Kaninchens im hängenden Tropfen zusammen, so sieht man, wie nach kürzester Zeit, unter Umständen schon nach den ersten Sekunden die Bewegungen der Leukozyten aufhören, ihre Pseudopodien eingezogen werden, das Protoplasma körnig wird, der Kern und Zellmembran deutlich hervortritt, und schließlich der Inhalt der Zelle bis auf eine aufgequollene Blase mit wenigen glänzenden Körnchen verschwindet. Selbst bis zu einer 500—1000 fachen Verdünnung kann das Serum noch diese Erscheinungen hervorrufen, doch erfolgen sie dann langsamer und erfordern Stunden statt Minuten. Die Wirksamkeit der Exsudate ist übrigens eine sehr verschiedene. Auch die Kulturen der Staphylokokken und ihre Filtrate enthalten, wenn sie älter werden und besonders, wenn sie mit Blut oder Serum zusammengesetzt sind, dieses Leukozidin, und zwar virulente und nichtvirulente in ziemlich gleicher Menge; im Tiere bilden nur die ersteren ein kräftiges Gift, weil die abgeschwächten Kokken zu frühzeitig in ihnen erliegen. 10 Minuten lange Erhitzung auf 58—60° zerstört das Leukozidin⁴⁾. Nur

1) Arch. f. Gynäk. 83. 52, 1907.

2) La Cellule 10, 1894; Annal. Pasteur 1896. 580 (vgl. auch Denys und van de Velde Cellule 11).

3) Van de Velde benutzte zur Gewinnung von frischen Leukozyten das Pleuraexsudat, das er durch Einspritzung von gekochten Staphylokokkenkulturen erzeugte. Allgemeine Verwendung gefunden hat jetzt nach dem Vorgange von H. Buchner das Exsudat, das nach Einspritzung von 5 — 10 ccm Aleuronatmischung (z. B. 3 Al. + 1 g Stärke + 200 Kochsalzlösung gut verrührt und gekocht) binnen 24 Stunden in der Brust- oder Bauchhöhle von Kaninchen, Meerschweinchen usw. entsteht. Zur Verhütung der Gerinnung kann man es nach Neißer und Wechsberg ohne Schaden für seine übrigen Eigenschaften mit gleichen Teilen 1prozentigen Natriumoxalats versetzen. Auch Kochsalzlösung oder Bouillon in größeren Mengen ergibt ziemlich brauchbare Exsudate.

4) Vgl. aber Neißer und Wechsberg (s. u.).

mit nicht erhitzten Exsudaten gelingt es, Kaninchen gegen dieses Gift zu immunisieren, ihr Serum enthält dann Antileukozidin. Bail¹⁾, v. Lingelsheim²⁾ und Neißer und Wechsberg³⁾ bestätigten diese Ergebnisse vandeVeldes im wesentlichen.

Nach v. Lingelsheim sind die Leukozyten anderer Warmblüter, namentlich der Meerschweinchen und Mäuse, viel widerstandsfähiger als die des Kaninchens, die des Frosches ganz unempfindlich. Die allgemeine Giftigkeit der Staphylokokkenkulturen (§ 298) geht mit ihrer leukoziden Kraft Hand in Hand, dieselbe Temperatur zerstört beide. Dem entspricht auch, daß Meerschweinchen und Mäuse gegen das Staphylokokkengift viel weniger empfindlich sind als Kaninchen, doch haben wir andere Beobachtungen, die für die Verschiedenheit dieser Gifte sprechen, schon S. 967 erwähnt. Sicher verschieden von dem Leukozidin ist jedenfalls das Staphylolysin, das die roten Blutkörper löst. Neißer und Wechsberg haben nämlich gefunden, daß sie in ungleichen Mengen und zu verschiedener Zeit in den Staphylokokkenkulturen auftreten. Diese Forscher bedienten sich dabei nicht des Mikroskops zur Prüfung des Leukozidingehalts, sondern der sog. bioskopischen Methode, die sie auch bei anderen Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von Zellen erprobt hatten⁴⁾. Bringt man $\frac{1}{2}$ ccm eines zu gleichen Teilen mit einer Lösung von oxalsaurem Natron vermischten Aleuronatexsudats (s. o.) vom Kaninchen in nicht zu weite Reagensröhrchen, füllt mit 0,85 prozentiger Kochsalzlösung zu 2 ccm auf, fügt 2 Tropfen einer dünnen Methylenblaulösung⁵⁾ hinzu und überschichtet mit Paraffinum liquidum zur Abhaltung des Luftsauerstoffs, so entfärbt sich das Röhrchen nach zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank (37°) in der unteren Hälfte, wenn genügende Mengen lebender Leukozyten im Exsudat vorhanden sind. Fügt man aber so viel Leukozidin hinzu, daß die Zellen abgetötet werden, so bleibt die Entfärbung aus. Um den Versuch zur quantitativen Färbung des Leukozidingehalts zu benutzen, hat man zunächst, da die Zahl der lebenden Zellen im Exsudat wechselt, diejenige Exsudatmenge festzustellen, die noch reduziert. Sie sei z. B. 0,25 ccm. Man nimmt die doppelt Menge, also 0,5 ccm, fügt das Staphylokokkenfiltrat hinzu, füllt mit Kochsalzlösung auf 2 m auf und läßt es $1\frac{1}{2}$ Stunden im Brutschrank einwirken, dann gibt man 2 Tropfen Methylenblaulösung hinzu, überschichtet mit flüssigem Paraffin und beobachtet die Färbung der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit nach zweistündigem Aufenthalt im Ofen. Die Ergebnisse des Verfahrens entsprechen denen der mikroskopischen Prüfung der Lebensfähigkeit der Leukozyten. Neißer und Wechsberg fanden auf diese Weise z. B., daß von dem Filtrate der Bouillon nach 2 Tagen 0,75 ccm höchstens spurenweise, nach 6 Tagen 0,1 ccm, nach 8 Tagen 0,025 ccm vollständig reduziert, und die Wirksamkeit älterer

1) Arch. f. Hyg. 32.

2) Ätiol. und Ther. der Staphylokokkeninfekt. 1900 (Behrings Beitr. z. experim. Ther.).

3) Zeitschr. f. Hyg. 36, 1901.

4) Münch. med. Woch. 1900. 37.

5) Von einer Stammlösung (1 : 20 Alkoh. + 29 Wasser) wird 1 ccm mit 49 ccm 0,85 prozentiger Kochsalzlösung verdünnt.

Kulturen bis zum 16. Tage sich noch änderte. Wurden die Filtrate mit Karbolsäure im Eisschrank aufgehoben, so schwächte sich ihre leukozide Wirkung schon nach 1—2 Wochen stark ab, während die hämolytische ziemlich beständig blieb. Umgekehrt trat das blutlösende Vermögen in der Kultur manchmal später auf, als das leukozytentötende. Die virulenten Staphylokokken, die Hämolysin bildeten, entwickelten zwar gewöhnlich auch Leukozidin, doch nicht immer, und das Mengenverhältnis beider Stoffe war ein sehr schwankendes. Ein gewisser Unterschied besteht auch in der Widerstandsfähigkeit beider Gifte gegen Hitze: 20 Minuten lang dauernde Erhitzung auf 50° zerstört das Leukozidin völlig, während Spuren von Hämolysin dabei übrig bleiben. Immerhin ist kein großes Gewicht darauf zu legen, weil kleine Mengen des Hämolysins leichter nachzuweisen sind. Wichtiger ist dagegen, daß die Leukozyten das Leukozidin einem Filtrat völlig entziehen können, nicht das Hämolysin. Etwas Hämolysin verschwindet allerdings bei solchen Bindungsversuchen, wohl schon aus dem Grunde, weil die Exsudate ja stets auch rote Blutkörperchen enthalten. Man darf aus diesen Tatsachen auf die Verschiedenheit der beiden Gifte schließen. Einiges andere spricht nur scheinbar dagegen, so ist der Umstand, daß rote Blutkörper aus dem Staphylokokkenfiltrat nicht nur das Hämolysin, sondern auch das Leukozidin absorbieren, vielleicht daraus zu erklären, daß gerade diese Zellen für beide bindende Gruppen besitzen — wenn es sich nicht um eine physikalische Absorptionswirkung handelt. Ferner beruht die von Neißer und Wechsberg hervorgehobene Möglichkeit, nicht nur mit leukozidinreichen, sondern auch mit hämolysinhaltigen, aber leukozidinfreien Filtraten im Serum von Tieren die Entwicklung von Anti-leukozidin zu veranlassen, vielleicht darauf, daß die immunisierenden Gruppen des Leukozidins in den betreffenden Filtraten in Form von Leukozidinoiden — den Toxoiden vergleichbar (§ 275) — vorhanden sind. Die Existenz derartiger Körper müßte aber durch Absorptionsversuche mit Leukozyten noch näher begründet werden. Soviel steht jedenfalls fest, daß Immunisierung gegen das Leukozidin mit der erhitzten Staphylokokkenkultur ebensowenig gelingt, wie gegen das Hämolysin; die immunisierende Gruppe beider Körper scheint also im Gegensatz zu den anderen „Toxoiden“ dem Erhitzen nicht standzuhalten.

Im normalen Blutserum mancher Tiere, insbesondere des Pferdes, und beim Menschen finden sich Gegenkörper sowohl gegen Hämolysin wie Leukozidin, zweifelhaft ist es aber nach Neißer und Wechsberg, ob das auch für das Kaninchen gilt, wie Danysz und van de Veldt annehmen. Ebenso muß die Natur dieser normalen Gegenkörper noch unentschieden bleiben (s. o. S. 1009).

Von vornherein ist es sehr wahrscheinlich, daß es nicht bloß ein Leukozidin gibt, doch ist die Frage noch nicht so gründlich geprüft worden wie bei dem Hämolysin (S. 1006). Neißer und Wechsberg geben an, daß die Filtrate aller Staphylokokken, die überhaupt Leukozidin enthalten, durch dasselbe Immunserum neutralisiert werden; das spricht für die Einheit des Staphylokokkenleukozidins. — Die Untersuchungen über die Beeinflussung der Leukozyten durch andere Bak-

teriengifte sind viel weniger zahlreich; soweit man sehen kann, bildet auch kaum ein anderes Bakterium Leukozidine, die im Reagensglas eine ähnliche Kraft entwickeln, wie das der Staphylokokken. Immerhin haben Casagrandi¹⁾ bei manchen Abarten des *Streptococcus lanceolatus*, Calamida²⁾ bei Hühnercholera bazillen, Gheorgiewski³⁾ auch bei dem *Pyocyanus leukozides* Vermögen gefunden. Eisenberg⁴⁾ hat ferner in den Filtraten der Rauschbrand- und Ödembazillen neben Hämolysin Leukozidin gefunden. Bei Gelegenheit von Aggressinversuchen untersuchten Bürgers und Hösch⁵⁾ in meinem Laboratorium auch die Wirkungen des Ruhrbazillenextraktes auf Leukozyten, fanden aber höchstens geringe Wirkungen⁶⁾. Am wichtigsten wäre es natürlich, wenn die Bakterien im Tierkörper selbst Leukozidin bildeten. Denys und Vandeveldé (s. o.) fanden aber in Pleuraexsudaten, die durch Streptokokken, Typhus- und Diphtheriebazillen hervorgerufen waren, kein leukozytentötendes Vermögen, wenn sie die Prüfung außerhalb des Tierkörpers anstellten. Weil und Nakayama⁷⁾ waren glücklicher bei Prüfung des Exsudats (des „tierischen Aggressins“ S. 1024) von Heubazillen, Weil und Tsuda⁸⁾ vermißten ein Leukozidin aber wieder im Exsudat von Ruhrbazillen. Helly⁹⁾, der freilich nur die Exsudate selbst untersuchte, fand Entartungserscheinungen an den Leukozyten auch in Exsudaten, die durch lebende Diphtherie- oder Pneumobazillen oder durch ihre mit Aleuronat gemischten Filtrate hervorgerufen waren, während Aleuronat allein die Leukozyten nicht veränderte. v. Bardeleben schreibt namentlich den virulenten Streptokokken im Tierkörper selbst (im Aleuronatexsudat) eine starke leukozytenauflösende Wirkung zu und konnte sie auch im Reagensglas wiederfinden, wenn er die an anderer Stelle beschriebenen (§ 295) mit Exsudat hergestellten Giftlösungen der Streptokokken verwandte. Nach demselben Forscher beruht die gerinnungserzeugende Fähigkeit der Streptokokken in Blutgefäßen auf dieser leukoziden

1) Bullet. Soc. Lancis. Roma 1902, ref. Biochem. Zentralbl. 1903. 200 und Baumgartens Jahresber. 1902. 60.

2) Zentralbl. Bakt. 35, 618, 1904.

3) Annal. Pasteur 1899.

4) Soc. biol. 16. 3. 1907.

5) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 2, 65, 1909.

6) Auch Galeotti (Sperimentale 1900) schreibt seinen Nukleoproteiden keine schädlichen Wirkungen auf Leukozyten zu (s. u. § 318).

7) Berl. klin. Woch. 1906. 3.

8) Ebenda 1907. 33.

9) Ziegl. Beitr. 37 u. Zentr. Bakt. 39. 94, 1905.

Eigenschaft. Weitere Versuche innerhalb und außerhalb des Tierkörpers wären zu wünschen. Übrigens ist die Beobachtung der Vorgänge im lebenden Tiere nur vorsichtig zu verwerten, weil hier mehrere Fehlerquellen in Frage kommen.

Von dem Verschwinden der Leukozyten, die man nach allen möglichen Einspritzungen ins Bauchfell beobachtet, als Ursache der sog. Phagolyse, sprechen wir in der Infektionslehre; sie beruht wohl zum großen Teil auf einer mechanischen Zusammenballung und Niederschlagung der Leukozyten auf dem Netz usw., nicht auf ihrer Auflösung. Allerdings scheint auch die letztere bei Entzündungen und Eiterungen aller Art nicht zu fehlen. Es ist aber fraglich, ob nicht andere als bakterielle Einflüsse, z. B. Zersetzungsprodukte der tierischen Gewebe oder Sekrete ihrer Zellen, namentlich aber auch autolytische Wirkungen, die Selbstverdauung der Leukozyten dafür in Frage kommen. Man pflegt den Leukozyten ihrer ganzen Beschaffenheit nach ja nur eine kurze Lebensdauer zuzuschreiben.

Welche Bedeutung haben nun die Leukozidine für die Bakterien, die sie erzeugen? Diese Frage ist nicht so einfach zu entscheiden, wie es wohl scheinen könnte. Stellt man sich auf den Standpunkt, daß die lebenden Leukozyten und nur diese an der Stelle der Infektion die Obliegenheit haben, letztere zu bekämpfen, so wird man geneigt sein, daraus zu schließen, daß die Leukozidine die Infektion begünstigen, den Widerstand des infizierten Körpers herabsetzen, also zu den „Angriffsstoffen“ (§ 319) gehören. Hält man es andererseits für wahrscheinlich, daß die Leukozyten auch oder gar in erster Linie durch die Stoffe, die sie nach außen abgeben, schädlich auf die Bakterien wirken, so wird man umgekehrt in den Leukozidinen Stoffe sehen können, die für die angegriffenen Organismen günstig, also als „Reizstoffe“ (§ 331) wirken. Durch Versuche Bails scheint die Streitfrage eher in letzterem Sinne beantwortet worden zu sein (S. 1033). Bei der Besprechung späterer Aggressinversuche Bails mit Staphylokokken-Exsudaten (S. 1025) werden wir sehen, daß die allgemeine Giftigkeit dieser Flüssigkeiten eine Deutung erschwert. Immerhin macht es den Eindruck, als ob die aggressiven Leistungen von den leukoziden zu trennen seien (S. 1033).

Von den Leukozyten lähmenden bzw. eine negative Leuko- und Phagotaxis ausübenden und daher infektionsbegünstigenden Bakterienstoffen (S. 1034 ff.) sind die Leukozidine sicher verschieden.

§ 318. **Organgifte.** Bei Besprechung der Veränderungen, die durch Infektionsgifte im Tierkörper verursacht werden, sind wir schon wiederholt auf Organveränderungen gestoßen. Wir erwähnen hier nur die Wirkungen, die die Endotoxine, wenn sie im Blute kreisen, auf den Darm namentlich der Fleischfresser ausüben (S. 914), ferner die

Störungen in den nervösen Zentralorganen durch Tetanus, Botulinus und namentlich das „Kaninchengift“ der Dysenterie (§ 289), die entzündlichen und nekrotischen Wirkungen der Fleischgifte, der Hogcholera usw., die nicht nur in den inneren Organen, z. B. der Leber, sondern auch auf den Schleimhäuten des Darms bei Einführung in den Magen sich bemerkbar machen (S. 944), die Reizwirkung der Gonokokkengifte auf die Epithelien der Urethralschleimhaut (S. 965). Bisher hat man sich aber nur selten Mühe gegeben, durch Versuche im Reagensglas derartige Wirkungen zu erklären. Neißer und Wechsberg¹⁾ beobachteten nach Einspritzung von Staphylokokkengift unter die Haut und namentlich ins Blut von Kaninchen nekrotische Herde in den Nieren (Nephrotoxin). Nach ihnen beruhen sie auf der Verstopfung von Gefäßen durch Leukozyten bzw. den abgestorbenen Resten von solchen, d. h. in letzter Linie auf Leukozidinwirkung. Sie glaubten den Beweis dadurch zu erbringen, daß das unmittelbar in die Nieren eingespritzte Gift ebensowenig diese verändert, wie die Nierenepithelien im Reagensglas durch Staphylokokkengift im bioskopischen Versuch (S. 1016) eine Beeinflussung zeigten. Man wird die Frage aber noch nicht als völlig geklärt hinstellen können, da schon früher Ribbert²⁾ auch mit stärker erhitzten, also ihres Leukozidins beraubten Staphylokokkenkulturen von der Blutbahn aus ähnliche Nierenstörungen erzeugte. Übrigens werden auch den Hämolysinen und Hämagglutininen (§ 317) auf Grund von Reagensversuchen Wirkungen zugeschrieben, die sich im letzteren Tier durch Gefäßverstopfung äußern könnten. Sonst wäre noch zu erwähnen die Mitteilung Galeottis³⁾, nach der die alkalischen Extrakte der Bakterienleiber, bzw. ihre „Nukleoproteide“ (S. 869), auf isolierte Flimmerepithelien und Samenfäden zerstörend wirken oder mindestens ihre Bewegungen hemmen, Leukozyten aber umgekehrt zu größerer Beweglichkeit zu reizen scheinen. Auch andere Körpergewebe, wie Niere und Leber, sollen schädlich beeinflußt werden, das wird aber wieder nur auf Grund der Veränderungen im lebenden Körper behauptet, wie wir sie oben von dem Versuche mit Hogcholeragift usw. erwähnt haben⁴⁾.

1) Zeitschr. f. Hyg. 36. 343, 1901.

2) Pathol. Anat. und Heilung der durch den Staphylococcus pyogenes hervorgerufenen Erkrankungen. Bonn 1891.

3) Sperimentale 1900. 554.

4) Auf die Bindungsversuche, die mit verschiedenen Giften und Organen angestellt worden sind (vgl. Dysenterie, Tetanus und Diphtherie), gehen wir hier nicht ein, weil die Bindung an sich noch keine Veränderungen der Zellen zu bewirken braucht.

Kapitel XVII.

Angriffs-, Reiz- und Impfstoffe.

§ 319. Geschichte und Vorkommen der Angriffsstoffe (Aggressine). Schon mehrfach ist in diesem Buche von den Angriffsstoffen oder Aggressinen der Mikroben die Rede gewesen, zuerst an der Stelle, wo es sich darum handelte, das Wachstum der infektiösen Keime im Tierkörper, in dem ja die große Mehrzahl der Mikroben nicht zu gedeihen vermag, d. h. die sogenannte Virulenz oder Infektiosität zu erklären (§ 51). Gerade die „Angriffsstoffe“ sollen jene dazu befähigen, die Wachstumswiderstände im Tierkörper, d. h. die Wirkungen der tierischen Abwehrkräfte (vgl. Infektions- und Immunitätslehre) zu überwinden, in erster Linie, indem sie die „Abwehrstoffe“ der Tiere neutralisieren. Die Angriffsstoffe sind wesentlich spezifische Stoffe, weil sie das Gedeihen ihres eigenen Erzeugers befördern, können unter Umständen aber auch fremden Keimen nützlich werden und so die Erscheinungen der Misch- und Sekundärinfektion erklären. Im weitesten Sinne darf man aber auch da noch von „nicht spezifischen“ aggressiven Wirkungen sprechen, wo Stoffe, die überhaupt nicht von Mikroben stammen, Infektionen begünstigen¹⁾. Die Grundlagen für diese unsere Lehre sind schon früh gelegt worden.

Einer der ersten Forscher, die Beobachtungen gemacht haben, welche für das Vorhandensein von Angriffsstoffen sprechen, ist Wyssokowitsch. Er fand bei seinen im Laboratorium Flüggés ausgeführten Untersuchungen über den Verbleib der in das Blut von Versuchstieren eingespritzten Mikroben²⁾, daß eine Gruppe von Bakterien, die in kleinen Gaben nicht pathogen waren, aber in großen Gaben giftige Wirkungen, namentlich Gastroenteritis, hervorriefen, sich auch dadurch vor den anderen auszeichneten, daß sie sich im strömenden Blute und auch in den Organen länger als die übrigen lebendig erhielten und sich „später sogar bis zum

1) Die das Wachstum in toten Nährböden durch Neutralisierung von Giften befördernden Stoffe, deren Vorhandensein wir mehrfach (§ 49, 50, 57) betont, gehören schließlich auch hierher.

2) Zeitschr. f. Hyg. 1. 11, 1886.

Tode des Tieres reichlich vermehrten. Zu diesen gehörten der *Bac. Indicus*, *ruber*, *pneumoniae*, *crassus sputigenus* u. a. m. Man bekommt den Eindruck, als ob Wyssokowitsch den Giften dieser Bakterien ihre Haltbarkeit bzw. ihre Wachstumsfähigkeit im Tiere zuschreibe. Freilich hält er diese Gifte nicht für spezifisch, denn bei Sirotinin¹⁾ finden wir die Bemerkung, Wyssokowitsch habe in einer nicht veröffentlichten Versuchsreihe festgestellt, daß „unter dem Einfluß gewisser, von verschiedenen Bakterien erzeugter Ptomaine eine solche Herabsetzung der Zellenenergie des Körpers hergestellt werden kann, daß nunmehr Bakterien, die bis dahin selbst in großen Gaben nicht infektiös waren, es zu einer lebhaften Veränderung im Körper der Versuchstiere bringen“. Am wirksamsten erwies sich Wyssokowitsch eine sterilisierte wässrige Aufschwemmung des *Bac. Neapolitanus* (*B. coli*). Sirotinin konnte freilich in eigenen Versuchen diese Angaben nicht bestätigen, wohl aber Chantemesse und Widal²⁾. Unabhängig kam eine Reihe von Forschern, die sich mit der Ursache der Eiterung beschäftigten, auf ähnliche Vorstellungen wie Wyssokowitsch. Grawitz und de Bary³⁾ beobachteten z. B., daß Eiterkokken in an sich unschädlichen Gaben durch Beigabe ihrer eigenen und fremder Bakterienprodukte infektiöse Eigenschaften gewannen, und nach Fehleisen⁴⁾ sind die im Tierkörper selbst gebildeten Erzeugnisse der Eiterkokken, wie Eiter selbst, Auszüge davon und durchtränkte Muskelstücke aus der Nachbarschaft von Eiterherden ganz besonders geeignet, ihre Entwicklung zu fördern. In ähnlicher Richtung bewegten sich die bald danach gemachten Erfahrungen der französischen Schulen Bouchards⁵⁾ und Arloings⁶⁾. Kulturfiltrate nicht bloß von Staphylokokken und Streptokokken, sondern auch von *Pyocyaneus*, *Prodigiosus*, Rauschbrand, Hühnercholera, Pseudotuberkulose und echter Tuberkulose beschleunigten namentlich nach intravenöser Einführung den Verlauf der betreffenden subkutan oder intravenös erfolgenden Infektionen. Roger⁷⁾, der mit einem Auszug von Rauschbrandmuskeln arbeitete, stellte dabei ausdrücklich fest, daß der begünstigende Einfluß schon, wenn die Infektion 24 Stunden später eintrat, ausblieb und nach 3—4 Tagen einem „vaccinierenden“ Platz machte. Wie sich später herausstellte, ist das überhaupt die Regel, denn Kulturfiltrate besitzen ja nach den ziemlich gleichzeitigen späteren Feststellungen französischer und anderer Forscher immunisierende Eigenschaften (s. u. § 327, 331 u. 333). Eine Ausnahme sollen aber die Filtrate der Staphylokokken und der Pseudotuberkelbazillen⁸⁾ machen,

1) Zeitschr. f. Hyg. 1. 485.

2) Annal. Pasteur 1892.

3) Virchows Archiv 108 und 110, 1887.

4) Arch. f. klin. Chir. 36, 977, 1887.

5) Verh. X. internat. Kongr. Berlin (1890) 1. 58, ausführlicher in Rev. de médecine 1890. 537.

6) Vgl. Courmont, Études sur les substances solubles prédisposant à l'action pathogène. Thèse de Lyon 1891, Nr. 612. Lit.

7) Soc. biol. 1889, 277.

8) *B. pseudotuberculosis similis* Kruse in Flügges Mikroorg. 3. Aufl. 2. 454.

insofern sie noch eine Wochen und Monate später erfolgende Infektion begünstigen¹⁾ und bei den letzteren soll die Begünstigung nicht sofort, sondern erst nach 24 Stunden eintreten (C o u r m o n t).

B o u c h a r d begründete auf diese Funde seine Theorie der Infektiosität, indem er den „begünstigenden Stoffen“ der Bakterien die Fähigkeit zuschrieb, die Phagozytose unmittelbar und durch Lähmung der gefäßerweiternden Nerven bzw. Verhinderung der Auswanderung mittelbar unmöglich zu machen. Weiterhin haben andere französische Forscher, V a i l l a r d und V i n c e n t ²⁾, für den Tetanus und B e s s o n ³⁾ für das maligne Ödem, ähnliche Ansichten vertreten. Nach ihm sollen die von „Gift“ befreiten Sporen im Körper der Versuchstiere nicht auswachsen, sondern von den Phagozyten zerstört werden. Sind dagegen die eigenen Gifte oder die Stoffwechselprodukte fremder Bakterien zugegen, so keimen die Sporen aus. Nach D u n s c h m a n n ⁴⁾ sollen sich die Sporen der Ödembazillen ähnlich verhalten. Gleichzeitig mit B o u c h a r d teilte G a m a l e i a ⁵⁾ in einer wenig beachteten Arbeit mit, daß man bei Kaninchen, die sonst dagegen unempfindlich seien, durch intravenöse Einspritzung ins Blut eine Darmcholera erzeugen könne, wenn man ihnen daneben Prodigiosusgift, Papain, Pankreatin, Methämoglobin, Nitrite oder Nitrate, Glykokoll oder Leuzin beibringe. Alle diese Stoffe besäßen die Fähigkeit, die bakteriziden Eigenschaften der Körpersäfte aufzuheben und in dem Vermögen, derartige Stoffe zu erzeugen, bestände die Infektiosität der Bakterien.

Etwas später habe ich mich mit diesen Dingen befaßt⁶⁾, stellte im Verein mit B o n a d u c e fest, daß die Infektion von Kaninchen und Meerschweinchen mit Milzbrand sich durch gleichzeitige Einspritzung großer Mengen abgetöteter Bazillen beschleunigen bzw. befördern ließ, führte aber im wesentlichen auf Grund von Reagensglasversuchen (s. u.) die Leistung der in den Leibern und den Absonderungen der infektiösen Bakterien vorausgesetzten „Angriffsstoffe“⁷⁾ auf ihre alexinneutralisierenden Eigenschaften zurück, während ich das Vorhandensein von Wirkungen auf die Leukozyten — die „negativ chemotaktischen“ Wirkungen der französischen Forscher — in den Aggressinen unentschieden ließ. Die Angriffsstoffe selbst sollten es sein, die im Tierkörper nach einiger Zeit die Bildung von

1) Eine Tage und selbst Wochen dauernde Überempfindlichkeit gegen dieselben und fremde Infektionen ist auch nach Schutzimpfungen häufig beobachtet worden. Experimente an kleinen Versuchstieren stützen diese Erfahrungen freilich nicht (vgl. S. 1072, Anm. 1).

2) Annal. Pasteur 1891.

3) Ebenda 1895.

4) Ebenda 1894.

5) Verh. X. internat. Kongr. Berlin (1890) Bd. 2, Abt. 3, S. 34: „Bemerkungen über Infektion, Immunität und Heilung“.

6) Zieglers Beitr. 12. 339, 347, 366 ff., 1892.

7) Zuerst auch „Lysine“, später (seit 1905), um Mißverständnisse zu vermeiden, „Aggressine“ genannt (in einem Briefe an B a i l).

Schutzkörpern¹⁾ und damit Immunität veranlaßten. Später²⁾ habe ich diese Theorie noch weiter ausgeführt. Obwohl einige Forscher durch Reagensglasversuche im Laufe der Zeit weitere Stützen für sie beibrachten, wurde die Zahl der beweisenden Tierversuche zunächst nicht wesentlich vermehrt, bis 1899 D e u t s c h ³⁾ mit toten Typhusbazillen, 1902 W i l d e ⁴⁾ mit toten Typhus- und Cholerabazillen, K. B a u e r ⁵⁾ mit Gewebsauszügen von Eiterherden und — seit 1905 — B a i l ⁶⁾ und seine Mitarbeiter W e i l, K i k u c h i, S a l u s, H o k e, N a k a y a m a mit „tierischen Aggressinen“, d. h. in vorsichtiger Weise keimfrei gemachten Exsudaten (oder Blutseren) von Milzbrand-, Hühnercholera-, Schweineseuche- und -pest-, Dysenterie-, Cholera-, Typhus-, Pest-, Coli-, Heubazillen-, Staphylokokken-, Pneumokokken-, Tuberkulose-tieren aggressive Erfolge erzielten bzw. zu erzielen vermeinten. Für viele gewann dadurch erst die Aggressintheorie Leben, und zwar ausschließlich in der ihr von B a i l gegebenen Form, nach der die Angriffsstoffe in erster Linie dort zu finden sein müßten, wo die infektiösen Bakterien in der Lage wären, die Abwehrkräfte der tierischen Körper zu überwinden, d. h. in den Exsudaten der Infektionsstelle oder im Falle der Septizämie im Blut, ferner im wesentlichen dadurch wirkten, daß sie die Phagozytose hemmten, und schließlich durch Bildung von Antiaggressinen die eigentliche Ursache der Immunität abgäben. Nach B a i l wäre sogar bei septizämischen Krankheiten die Behandlung mit tierischen Aggressinen die sicherste oder einzig brauchbare Art der Immunisierung. Das Vorkommen von Angriffsstoffen im infizierten Tiere ist im übrigen eine alte Erfahrung (s. o. F e h l e i s e n, R o g e r, B a u e r) und die Angaben der B a i l'schen Schule sind später vielfach bestätigt bzw. erweitert worden, so von W a s s e r m a n n und C i t r o n ⁷⁾, D ö r r ⁸⁾, S a u e r b e c k ⁹⁾.

1) Antilysinen oder Antiaggressinen.

2) Krankheitserregung in Flüggés Mikroorg. 3. Aufl. 1. 409 und 413, 1896.

3) Wien. med. Presse 1899 (nach D e u t s c h und F e i s t m a n t e l. Impfstoffe und Sera 1903.)

4) Arch. f. Hyg. 44.

5) Deutsch. med. Woch. 1902. 13. Ver.-Beil. S. 99: Über „lokale Toxine“.

6) Zahlreiche Arbeiten in Zentr. Bakt. 36; 40; 42, Arch. f. Hyg. 52 und ff.; Wien. klin. Woch. 1905 und 1906. Vgl. deren ausführliche kritische Bearbeitung bei S a u e r b e c k in Ergebn. allg. Path. v. L u b a r s c h - O s t e r t a g, 11. J. 1. Abt. S. 806, 1907.

7) Deutsch. med. Woch. 1905. 28.

8) Wien. klin. Woch. 1905. 42; 1906. 25; Zentr. Bakt. 41, 1906.

9) Zeitschr. f. Hyg. 56, 1907.

Friese¹⁾, Ballner²⁾, Nieter³⁾, Levy und Bachmann⁴⁾, Jürgens⁵⁾, Bürgers und Hösch⁶⁾. In einigen der von Bail studierten Fälle hat freilich Sauerbeck⁷⁾ mit Recht den Beweis einer eigentlichen Aggressinwirkung in den Exsudaten, d. h. eine Steigerung des Bakterienwachstums durch sie vermißt und — namentlich bei den Staphylokokken- und Tuberkuloseversuchen — die Beschleunigung nach erwiesener Erkrankung auf die Giftigkeit der Exsudate zurückgeführt (vgl. § 321 ff.). Wahrscheinlich gilt diese Erklärung auch für manche der älteren Angaben namentlich der französischen Forscher über begünstigende Wirkungen von Kulturfiltraten. Gar nicht so selten fehlen ferner die aggressiven Leistungen der Exsudate bei Infektionen, wo man sie sonst findet (Bürgers und Hösch, Huntemüller⁸⁾) und bei anderen, wo man sie erwarten sollte (Pfeiffer und Heller⁹⁾). Man kann also nicht zugeben, daß gerade die Exsudate eine so ideale Fundstelle der Angriffsstoffe seien, wie Bailes hingestellt hatte. Auf der anderen Seite ist das Vorkommen von Aggressinen in den Kulturfiltraten und den Bakterienleibern aus künstlichen Kulturen durch die zahlreichen älteren Versuche (s. o.) und die neueren von Wassermann und seinen Mitarbeitern Citron¹⁰⁾ und Pütz¹¹⁾, ferner von Dörr, Sauerbeck, Friese, Ballner, Levy und Fornet¹²⁾, Levy und Granström-Woskoboïnikow¹³⁾, Flexner¹⁴⁾, Turrò¹⁵⁾, Simoncini und Pino¹⁶⁾, Livierato¹⁷⁾, Preisz¹⁸⁾, Bail¹⁹⁾ und seinen Mitarbeitern

1) Arch. f. Hyg. 60.

2) Zentr. Bakt. 42. 343.

3) Zeitschr. f. Hyg. 56, 1907, Streptokokkenexsudate.

4) Zentr. Bakt. 43. 47, 1907, Schweinepest- und Milzbrandblutserum.

5) Z. experim. Path. 3. 249, Filtrat von Pneumokokkensputum.

6) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 2, 1909.

7) Vgl. Anm. 6 auf voriger Seite.

8) Zentr. Bakt. 42. 170 (Hühnercholera).

9) Ref. Zentr. Bakt. 38 Beiheft 21 (Metschnikoff-Vibrionen).

10) a. a. O. und Zentr. Bakt. 40, 41 und 43. Zeitschr. f. Hyg. 52 und 53, 1905 und 1906.

11) Ebenda 56.

12) Deutsch. med. Woch. 1906. 26, Typhus, Paratyphus.

13) Zentr. Bakt. 45. 360, 1907, Pyocyaneus und Proteus.

14) Ebenda 43, 1901, Meningokokken.

15) Soc. biol. 25, I. 1908.

16) Baumgartens Jahresber. 1904. 896, Prodigiosus.

17) Zentr. Bakt. 43. 134, 1907, Influenza.

18) Ebenda 44, 1908, Aggressine aus Milzbrandkapseln dargestellt.

19) Wien. klin. Woch. 1906. 43, Milzbrandextrakte.

Weil und Axamit¹⁾, schließlich von Pane und Lotti²⁾, Bürgers und Hösch³⁾, Jeßner⁴⁾ so sicher, und zwar nicht nur für alle von Bail studierten Erreger, sondern auch für manche andere⁵⁾ bewiesen worden, daß kein Zweifel daran möglich ist. Ja, namentlich die letzten drei in meinem Laboratorium ausgeführten Arbeiten haben gezeigt, daß die „Kulturaggressine“ in vielen Fällen unvergleichlich mehr und beständiger wirksam sind als die tierischen. Genügt doch z. B. ein durch zweistündige Erhitzung auf 60—65° und gründliches Ausschleudern gewonnenes „Kochsalzaggressin“ einer frischen Agarkultur von Ruhrbazillen, um den 1000. Teil der sonst infektiösen Gabe dieser Bakterien in der Bauchhöhle von Meerschweinchen zum üppigen Wachstum zu bringen, und wirkt doch noch der 20. Teil dieser Extraktmenge ebenso auf die halbe sonst infektiöse Gabe. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei Pseudodysenterie, Typhus, Cholera usw.

Die energischen Leistungen der künstlichen Aggressine ermutigten uns daher, die für die Erklärung der Virulenz grundlegende Frage nach den Unterschieden der Aggressinerzeugung bei Bakterien ungleicher Virulenz experimentell in Angriff zu nehmen. In der Tat gelang es Hösch und Bürgers sowie Jeßner, nachzuweisen, daß Ruhr- und Cholerabazillen, die hohe Virulenz gegenüber dem Meerschweinchen besitzen, weit reichlichere Aggressine ergeben, als abgeschwächte Bakterien derselben Art. Ebenso zeigten sich virulente Pseudodysenteriebazillen mit stärkeren Aggressinen begabt, als schwach virulente.

Damit schien eine der Hauptgrundlagen für unsere Aggressin- bzw. Infektionstheorie geliefert zu sein. Nicht überall liegen allerdings die Dinge so klar, nach Hösch und Bürgers waren wenigstens die Kochsalzaggressine „tierischer“, d. h. unmittelbar dem Tierkörper entnommener und daher virulenter Typhusbazillen ebenso wie ihre abgetöteten Leiber („seßhafte“ Aggressine) eher etwas weniger aggressiv, als die abgeschwächten Typhusbazillen aus Kulturen. Das ändert natürlich nichts an der Tatsache, daß die Kulturaggressine auch bei den Typhusbazillen sehr energisch wirken, sondern macht uns nur Vorsicht zur Pflicht, wenn wir die Bedeutung der darstellbaren Aggressine für die Virulenz beurteilen wollen (vgl. § 328).

1) Berl. klin. Woch. 1906. 53.

2) Zentr. Bakt. 43, 1907 außer Ruhr, auch Typhus, Cholera und Pseudodysenterie.

3) a. a. O. Cholera.

4) Königsberger mediz. Dissert. 1911.

5) Vgl. o. die Anmerkungen; die aggressive Wirkung der Diphtherieerzeugnisse gegenüber Diphtheriebazillen (Citron) wird von Salus (Arch. f. Hyg. 60) bestritten.

Man könnte auf den ersten Blick geneigt sein, den Umstand, daß man gerade die besten Erfolge mit künstlichen, nicht mit tierischen oder „natürlichen“ Aggressinen erhält, in dem Sinne zu verwerten, daß man die ersteren Stoffe für reine Kunstprodukte erklärt, die für die Vorgänge im lebenden Körper keine Bedeutung hätten. Die Vorzüge der künstlichen Aggressine können aber kaum wundernehmen, wenn wir bedenken, daß die im lebenden Körper abgesonderten Aggressine vielfach teils aufgesogen, teils an Ort und Stelle von den Abwehrstoffen des Tieres neutralisiert werden müssen. Übrigens haben wir auch bei den Enzymen öfter die Erscheinung, daß sie nicht bloß da, wo sie nötig sind, sondern auch bei anderer Gelegenheit gebildet werden, (S. 775) und auch bei den Bakterien giften machen wir die Erfahrung, daß sie durchaus nicht immer am Orte der Infektion am leichtesten nachweisbar sind (S. 867).

Mit Hilfe der kräftigen künstlichen Aggressine läßt sich nun auch die Frage nach der Spezifität der Aggressinwirkungen sicherer beantworten als mit den tierischen Aggressinen, deren Spezifität B a i l aehauptet, D ö r r , S a u e r b e c k u. a. aber geleugnet haben. P a n e und L o t t i , B ü r g e r s und H ö s c h sowie J e ß n e r zeigten durch Versuche am Tier, bei denen nicht bloß die Aggressinmengen und infizierenden Gaben genau abgestuft, sondern auch die Veränderungen der Bakterienzahl im Tier möglichst während des ganzen Verlaufes der Infektion festgestellt wurden, daß die Aggressine unzweifelhaft in gewissen Grenzen spezifisch wirken, daneben aber auch eine Beeinflussung der Erreger durch fremde Aggressine oft genug vorkommt. So wirkt das Ruhraggressin am stärksten infektionsbegünstigend auf Ruhrbazillen, etwas schwächer auf Pseudodysenterie- und Typhusbazillen, sehr viel schwächer auf Cholerabazillen und Staphylokokken; das Typhusaggressin sehr stark auf die eigenen Bazillen, aber nur schwach auf Ruhr- und Cholerabazillen, das Choleraaggressin beiweitem am stärksten auf die eigenen Bakterien. Die nicht spezifischen Leistungen der Aggressine können uns in keiner Weise in Erstaunen setzen, da wir seit lange nach den bei Misch- und Sekundärinfektionen gemachten Erfahrungen wissen, daß sich Infektionen gegenseitig unterstützen. Über die Begrenzung der Aggressinwirkungen nach Ort und Zeit werden wir bei Besprechung ihrer „defensiven“ Leistungen sprechen (S. 1072 u. 1075).

Auch sonst hat die „Aggressintheorie“ B a i l s vor der Kritik nicht standgehalten. So ist die immunsierende Leistung gegenüber Hühnercholera, Schweineseuche und Schweinepest nach W a s s e r m a n n , C i t r o n und P ü t z bei den künstlichen Bakterienauszügen keine geringere als bei den natürlichen Angriffsstoffen, namentlich wenn man die Auszüge mit Blutserum statt mit Wasser herstellt. Vielleicht gilt das gleiche für die Immunisierung gegen Milzbrand. Schließlich ist auch die Auffassung der B a i l s c h e n Schule, daß die Angriffsstoffe der Bakterien im wesent-

lichen gegen die Phagozyten gerichtet seien, nur eine Wiederholung der älteren französischen Lehre (S. 1023), die auch noch kurz vor *Bail* von *Deutsch* und *Feistmantel* (S. 1031) in etwas veränderter Form aufgenommen war, und wird wie diese den Tatsachen nicht gerecht (*Bürgers* und *Hösch* s. u.). Man wird freilich jetzt nach der Entwicklung, die unsere Kenntnisse im letzten Jahrzehnt genommen haben, zugeben müssen, daß die Phagozytose von der deutschen Schule und so auch von mir ursprünglich in ihrer Bedeutung als Abwehrmittel erheblich unterschätzt worden ist. So habe ich jetzt selbstverständlich allen Anlaß, von vornherein den Angriffsstoffen auch die Rolle zuzuschreiben, die Freßtätigkeit zu bekämpfen. Es geschieht das aber, wie die Untersuchungen von *Bürgers* und *Hösch* gezeigt haben (§ 322), in erster Linie nicht durch unmittelbare Beeinflussung der Freßzellen selbst, sondern auch wieder auf „humoralem“ Wege, d. h. mittelbar durch Neutralisierung der die Phagozytose anregenden Schutzstoffe, der Opsonine. Im übrigen bestehen, wie wir gleich sehen werden, noch manche Unklarheiten über die Wirkungen der Angriffsstoffe, auch je nach der Art der Infektionserreger erhebliche Verschiedenheiten. Natürlich kann man für die Aggressine ebenso wie für Gifte und Enzyme die Frage stellen, ob sie als Sekrete der lebenden Mikroben oder als Leibesbestandteile, die erst bei dem Zerfall frei werden, anzusehen seien. Wir legen in dem einen wie in dem anderen Falle kein maßgebendes Gewicht auf die Beantwortung dieser Frage, um so weniger, da sie fast unüberwindlichen Schwierigkeiten begegnet. Unter Verweisung auf das früher bei Enzymen und Giften Gesagte (§ 240, § 272) möchten wir hier nur betonen, daß die zeitweise oder vollständige Auflösung bzw. Vernichtung von Einzelindividuen sich mit der Nützlichkeit der Angriffsstoffe für das Leben der Art ganz gut verträgt; die zugrunde gehenden Individuen dienen eben gewissermaßen als „Kanonenfutter“ im Kampfe der Kleinwesen ums Dasein, sie verringern durch ihren Tod die Widerstände im Tierkörper und ermöglichen den nicht zerfallenden Individuen das Überleben und Wachstum.

§ 320. Darstellung und Eigenschaften der Aggressine¹⁾. Es müßte jetzt unsere Aufgabe sein, die Darstellung der Angriffsstoffe und ihrer Eigenschaften in derselben ausführlichen Weise zu besprechen, wie wir es seinerzeit für die Mikrobiengifte getan haben. Leider sind unsere Kenntnisse in dieser Beziehung aber noch nicht vollständig genug. Am besten bekannt sind durch die Arbeiten meines Laboratoriums die Dysenterieaggressine. Nach *Pane* und *Lotti*, *Bürgers* und *Hösch* widerstehen die in der S. 1026 angegebenen Weise aus den jungen Bazillenleibern dargestellten „Kochsalzaggressine“ dem Kochen, wenn sie auch etwa die Hälfte ihrer Wirksamkeit verlieren. Vermutlich verhalten sich die meisten Kulturaggressine ebenso, allerdings soll schon Erhitzen der sporenhaltigen Tetanus- und Ödemkulturen auf 65—80° deren Infektiosität vernichten (s. o. *Vaillard* und *Vincent*, *Besson*). Die tierischen Aggressine würden dagegen nach *Bail* schon durch niedrigere Temperaturen unwirksam

1) Über nicht bakterieller Aggressine s. S. 1031 u. 1052.

werden. Ob diese scheinbare Empfindlichkeit nicht bloß auf der verhältnismäßig schwachen Leistungsfähigkeit dieser Stoffe, d. h. auf ihrer Verdünnung oder auf der Fällungen ausgesetzten eiweißreichen Lösung, in der sie sich befinden, beruht, muß dahingestellt bleiben; nach B ü r g e r s und H ö s c h schienen bei 65° nicht bloß die Exsudataggressine¹⁾, sondern ebenso die durch einstündiges Ausziehen der Kulturbazillen mit frischem oder auf 55—65° erhitztem Blutserum bei 37° und Ausschleudern erhaltenen „Serumaggressine“ und die durch Ausschleudern einer eintägigen Bouillonkultur gewonnenen Bouillonaggressine ihre Aggressivität einzubüßen. Sie ist aber von vornherein 100 mal schwächer als die der „Kochsalzaggressine“.

Auch gegen andere schädigende Einflüsse, wie z. B. Trypsinverdauung, sind die Kochsalzaggressine widerstandsfähig (B ü r g e r s), ebenso halten sie längeren Aufenthalt bei 37° (mit Chloroform) ganz gut aus. Kochsalzaggressin bleibt im trockenen Zustande monatelang wirksam. — Etwas schwächer aggressiv als die bei höheren Temperaturen hergestellten Bakterienauszüge wirken die durch 24—28 stündiges A u s s c h ü t t e l n bei 20° gewonnenen „Schüttelaggressine“; dagegen ist die Aggressivität von „Bouillonaggressinen“ (Filtraten oder Zentrifugaten) aus alten Kulturen stärker als die aus frischen, da die in den Leibern enthaltenen Aggressine daraus allmählich in Freiheit gesetzt werden.

Die Lösung der Kulturaggressine aus den Bazillen braucht übrigens nicht im Reagensglas, sondern kann auch erst im Tierkörper erfolgen, denn durch Chloroform oder Erhitzen abgetötete L e i b e r von Dysenterie-, Cholerabazillen usw. besitzen ebenfalls Angriffsvermögen, büßen dasselbe aber größtenteils durch Ausziehen mit Kochsalzlösung bei hoher Temperatur ein (P a n e und L o t t i ²⁾).

Über die chemische Natur der Aggressine läßt sich bisher ebenso wenig Sicheres aussagen, wie über die der Leibesgifte, mit denen sie ihrer Darstellung und ihren Eigenschaften nach viel Ähnlichkeit haben (§280). Wenn sie Eiweißstoffe³⁾ wären, müßten sie doch solche besonderer Art

1) Auch diese werden am besten nach Verdünnung mit gleichen Teilen Kochsalzlösung durch gründliches Ausschleudern und Sterilisieren durch Chloroform dargestellt.

2) Von B ü r g e r s später nicht bestätigt.

3) Nach d e B l a s i (Annali d'igiene 1907. 253) soll das tierische Coliaggressin hauptsächlich enthalten sein in den Albuminfraktionen, nicht oder in geringem Maße in den Globulinfraktionen. D e W a e l e (Zentr. Bakt. 44. 360, 1907) unterscheidet zwei Arten von tierischem Typhusaggressin: das eine soll nicht dialysierbar sein und bei 58° zerstört werden, das andere die entgegengesetzte Eigenschaft besitzen. Bestätigungen bleiben abzuwarten.

sein, denn das Bakterieneiweiß an sich, das sich ja auf ähnliche Weise wie das Kochsalzaggressin aus den Bakterienleibern gewinnen läßt, ist durchaus nicht immer, jedenfalls lange nicht in dem Grade aggressiv, wie das oben beschriebene der virulenten Dysenterie-, Pseudodysenterie-, Typhus-, Cholerabazillen. Das zeigt in schönster Weise schon der Vergleich mit weniger infektiösen Bakterien derselben Art; so besaßen, wie wir oben (S. 1026) sahen, der Kochsalzextrakt stark abgeschwächter Ruhr-, Pseudoruhr- und Cholerabazillen trotz gleichen Eiweißgehaltes viel geringeres Angriffsvermögen als der virulenter Keime (Bürgers und Hösch, Jeßner).

Näher studiert zu werden verdient das Verhalten der grampositiven Bakterien. In unseren bisher freilich nur spärlichen Versuchen mit Staphylokokken, Diphtherie- und Milzbrandbazillen erwiesen sie sich wenig oder gar nicht wirksam. Hängt das etwa damit zusammen, daß sich aus diesen Bakterien bei der angegebenen Behandlung nur wenig Stoffe lösen (vgl. Endotoxine S. 915) und kann man sie durch eingreifendere oder anders geartete Verfahren gewinnen? Sind die Aggressine in diesen Bakterien etwa nur in den Leibern enthalten? An sich wäre es ja möglich, daß die Aggressine vielfach ausschließlich „seßhaft“ wären (§ 328). Oder werden schließlich die Aggressine, wie anscheinend manche Gifte und Impfstoffe wirklich, wie Bail annahm, nur im Tierkörper gebildet und unmittelbar nach ihrer Bildung neutralisiert, so daß sie für uns schwer nachweisbar werden? Alles das sind Fragen, die noch zu beantworten sind.

Natürlich gilt das oben über die Widerstandsfähigkeit der Aggressine Gesagte nur von den bisher bekannten Aggressinen. Es wäre sehr möglich, daß andere, z. B. die noch unbekannten der Protozoen, viel empfindlicher wären gegen unsere Eingriffe. Die Schwierigkeit, aus diesen Organismen Impfstoffe zu gewinnen (§ 333), scheint dafür zu sprechen.

§ 321. Aggressivität und Giftigkeit. Wir kommen jetzt zu der Erklärung der Aggressinwirkungen. Schon Wyssokowitsch und ein Teil der älteren französischen Forscher (Vaillard und Vincent) wollen sie mit den Giftwirkungen identifizieren, die letzteren freilich mehr in dem Sinne, daß sie, wie es später Deutsch ausdrücklich tat, eine besondere Giftigkeit für die Phagozyten annahmen; Dörr (a. a. O.), A. Wolff¹⁾, Sauerbeck (a. a. O.) und bis zu einem gewissen Grade auch Eisenberg²⁾ erklären die Aggressine ausdrücklich für identisch mit den allgemeinen Giften der Bakterien, A. Wolff im besonderen mit den Endotoxinen oder Leibesgiften. Sie berufen sich dabei auf die Giftigkeit der Aggressinlösungen, die allerdings unzweifelhaft bis zu einem gewissen Grade besteht, und

1) Münch. med. Woch. 1906. 5; Zentr. Bakt. Refer. 38. 641 und 737. 1906.

2) Zentr. Bakt. 45. 649 ff., 1907.

auf die aggressive Wirkung nicht spezifischer Gifte, die eine alte Erfahrung sei (vgl. Infektionslehre). Für manche in der Literatur niedergelegten Fälle mögen diese Beziehungen der sog. Aggressinwirkungen zu den Giften wirklich zutreffen. Es fehlte eben in den betreffenden Versuchen, wie wir mit Sauerbeck hervorheben müssen (S. 1025), das Hauptmerkmal der Aggressivität, die Steigerung des Bakterienwachstums, und man hat sich durch den Tod der Versuchstiere verleiten lassen, eine Beförderung der Infektion anzunehmen. Es soll ferner nicht geleugnet werden, daß manche allgemeine und örtliche Gifte wie Chloral, Chloroform, Äther, Alkohol, Opium, Kurare, Karbolsäure, Milchsäure, Krotonöl usw. diese oder jene Infektion begünstigen können. In jedem einzelnen Falle muß aber der Beweis geliefert werden, daß das wirklich geschieht. Denn für alle Infektionen gilt diese Aggressivität der Gifte keineswegs (s. u.). Andererseits haben schon Bouchard, Courmont, Bail usw. erkannt, daß die Giftigkeit der Kulturen und tierischen Aggressine im allgemeinen viel zu gering ist, um ihre starke Aggressivität zu erklären, und ich selbst habe seit meinen ersten Arbeiten immer wieder betont, daß für das Verständnis der Infektionserscheinungen nichts wichtiger ist, als die begriffliche Scheidung der Giftigkeit und Infektiosität der Krankheitserreger. Ich verweise auf die Ausführungen an anderen Stellen (§ 51, 257 u. 268) dieses Buches, die dafür zeugen, daß die Giftigkeit der Bakterien der Regel nach geradezu im umgekehrten Verhältnis zu ihrem Wachstumsvermögen im Tierkörper steht, und der Widerstand der Tiere gegen die Infektionsgifte nichts zu tun hat mit den Wachstumswiderständen und Abwehrkräften gegenüber den lebenden Keimen. Der Charakter der Infektiosität besteht darin, diese letzteren Widerstände zu überwinden, das vermögen jene Gifte vielleicht dadurch, daß sie Organe, die zu der Neubildung der Abwehrkräfte in Beziehung stehen, schädigen (vgl. Immunitätslehre). Wenn wir andererseits nachweisen können, daß die Aggressine die Abwehrkräfte des Körpers selbst, die Alexine, Optronine, Freßzellen usw. schädigen oder lähmen, haben wir ihre Wirkung erklärt, ganz gleichgültig, ob sie daneben noch giftig sind oder nicht. Das ist in der Tat der Fall, wie wir gleich sehen werden. Aber es ist auch leicht, ganz unmittelbar zu beweisen, daß die Giftigkeit nur eine zufällige Eigenschaft der Aggressine ist, daß die Gifte den letzteren also vermöge ihrer Darstellungsweise nur beigemischt sind. Bakterielle und andere Stoffe besitzen nämlich in vielen Fällen eine hervorragende Giftigkeit, d. h. sie töten schnell, ohne eine Spur von Aggressivität zu zeigen. Zahlreiche Beispiele

dafür, daß die Bakterienextrakte in Gaben, die durch „Endotoxinwirkung“ schnell tödlich sind, andere als die zugehörigen Bakterien nicht zum Wachstum bringen, finden sich in den Arbeiten von P a n e und L o t t i, B ü r g e r s und H ö s c h, J e ß n e r. Diese Forscher sahen ferner nicht die Spur einer aggressiven Wirkung auf Ruhrbazillen, wenn sie tödliche Gaben zentrifugierter Diphtheriebouillon oder Alkohol, Opiumtinktur, Krotonöl, Milchsäure in die Bauchhöhle einspritzten, während schon der zwanzigste bis vierzigste Teil der tödlichen Gabe des Ruhrbazillenextraktes, bei dem von einer Giftwirkung nicht das geringste mehr zu merken war, dennoch deutlich die Infektion begünstigte. Der sicherste Beweis der Verschiedenheit von Giftigkeit und Aggressivität wird aber durch die ebenfalls von uns bewiesene Tatsache geliefert, daß die Aggressivität des Ruhrbazillenextraktes durch Ruhrserum völlig aufgehoben werden kann, während die Giftigkeit bestehen bleibt. Das Immuserum bindet eben die Angriffsstoffe, nicht die leicht löslichen Endotoxine (s. u. und S. 949).

Ebensowenig wie allgemeine Giftwirkungen für das Wachstum der Infektionserreger im Tierkörper verantwortlich zu machen sind, kann man etwa sagen, daß die Aggressine dadurch wirken, daß sie örtlichen Gewebstod, Nekrose erzeugen. Erstens fehlen derartige Wirkungen bei den allermeisten Infektionen wie bei den Aggressinversuchen, zweitens erscheint die Nekrose da, wo sie auftritt, durchaus nicht einfach am Orte lebhaftesten Bakterienwachstums, ja das Gegenteil ist, soweit wenigstens die Infektionserreger selbst in Betracht kommen, der Fall, so daß man z. B. die Verkäsung der Tuberkel geradezu als eine Veränderung betrachten könnte, die den Tuberkelbazillen schädlich ist (§ 332). Nur an der Oberfläche des Körpers, wo Fäulnisbakterien herantreten können, kann ein Wachstum derselben in abgestorbenen Gewebsteilen stattfinden, ohne daß aber auch hier wieder den ursprünglichen Infektionserregern ein Vorteil daraus erwüchse. Soweit die Fäulniserreger selbst Krankheitserreger sind, machen sie vielleicht eine Ausnahme von der Regel, so z. B. Spießbazillen und Spirochäten bei der Vincent-Plautschen Angina, der Noma und Hospitalgangrän und die Bazillen beim brandigen Emphysem. Wir kommen in der Infektionslehre darauf zurück.

In manchen Fällen, namentlich bei Streptokokken und Staphylokokken, hat man schließlich Beziehungen zwischen der blutkörperzerstörenden, hämolytischen Wirkung und ihrer Virulenz feststellen können (§ 312). Indessen haben sie, abgesehen von ihrer mangelhaften Beständigkeit, mehr ein praktisch diagnostisches als ein wissen-

schaftliches Interesse, weil man nicht einsieht, wie die Lösung roter Blutkörper die Wachstumswiderstände im Tier beseitigen soll¹⁾).

§ 322. **Wirkung der Angriffsstoffe auf Leukozyten, Phagozyten und Opsonine.** Wenn die Aggressine nicht mit den Wirkungen der allgemeinen oder nekrotisierenden oder hämolytischen Gifte zusammenfallen, so könnten sie doch auf bestimmte Zellen, z. B. auf die für die Abwehrleistungen des Körpers so wichtigen **L e u k o z y t e n** und **P h a g o z y t e n** giftig wirken. In der Tat haben namentlich **D e u t s c h** und **F e i s t m a n t e l**²⁾ diese „leukoziden“ Wirkungen der infektiösen Bakterien betont, ja sie geradezu als Ursache der Infektiosität hingestellt³⁾. Daß leukozide Eigenschaften **m a n c h e n B a k t e r i e n** zukommen, haben wir § 317 gesehen, dort aber auch schon darauf hingewiesen, daß es von vornherein zweifelhaft sein kann, ob die Leukozidine für ihre Erzeuger Nutzen oder Schaden bringen. Nun haben zwar **N e i ß e r** und **W e c h s b e r g**, **R ü d i g e r**, **E i s e n b e r g** geglaubt, einen gewissen Zusammenhang zwischen Leukozidinerzeugung und Virulenz bei Staphylo- und Streptokokken, Rauschbrand- und Ödembazillen feststellen zu können. Derselbe besteht aber nicht regelmäßig genug und nicht gegenüber allen Tierarten. Schon der Entdecker des besonders wirksamen Staphylokokkenleukozidins, **v a n d e V e l d e**⁴⁾, hat die maßgebende Bedeutung desselben für die Virulenz durch die Beobachtung in Frage gestellt, daß virulente und abgeschwächte Kokken es in gleicher Menge erzeugen. **B a i l**⁵⁾ hat weiter nachgewiesen, daß die Zerstörung der Exsudatleukozyten durch das Leukozidin geradezu bakterizide Schutzstoffe aus diesen in Freiheit setzt. Auf der anderen Seite haben wir gezeigt, daß die kräftigen Ruhr- und Typhusaggressine keine deutlich leukoziden Eigenschaften besitzen. Man kann auch nicht sagen, daß die Befunde im infizierten Tier selbst im **a l l g e m e i n e n** für eine zerstörende Wirkung der virulenten Bakterien auf die Leukozyten sprächen. So sieht man die Leukozyten z. B. bei zum Tode führenden Milzbrand-, Hühnercholera- und Streptokokkeninfektionen in der Bauchhöhle oft im engsten Nebeneinander mit den Erregern wohl erhalten.

1) **N u t t a l l**, **B u c h n e r**, **S c h a t t e n f r o h**, **W a u t e r s** haben schon früher, wir selbst in den letzten Jahren eher eine schädliche Wirkung der Erythrozytenauflösung auf die Abwehrstoffe der Körpersäfte beobachtet. Allein **H e i m** (Münch. med. Woch. 1901, 18) will eine gewisse bakterizide Wirkung der roten Blutkörperchen gesehen haben, wenn er sie längere Zeit in Bouillon wirken ließ.

2) Impfstoffe und Sera, 1903 S. 17.

3) Vgl. auch **E i s e n b e r g**, Zentr. Bakt. 45. 65 ff. Lit.

4) Cellule 10. 2, 1894.

5) Berlin. klin. Woch. 1898. 921 u. Arch. Hyg. 32.

Danach kann die Fähigkeit, Leukozyten zu töten, wohl im Kampfe der Erreger gegen die Abwehrkräfte des Tieres bestenfalls nur eine nebensächliche Rolle spielen. Man könnte sich aber die Wirkung der Aggressine auf die Phagozyten mit den älteren französischen Forschern auf andere Weise erklären, nämlich mit B o u c h a r d , V a i l l a r d und V i n c e n t , B e s s o n durch ihre „negativ chemotaktischen“ Eigenschaften gegenüber den Leukozyten (Phagozyten), wozu dann noch eine derartige Beeinflussung der Gefäße käme, daß die Auswanderung der Leukozyten verhindert würde¹⁾, oder mit M a s s a r t und B o r d e t ²⁾ durch die Vorstellung, daß die Aggressine eine Durchtränkung des Körpers mit „positiv chemotaktischen“ Stoffen bewirkten, die eine Wirkung der an der Infektionsstelle neugebildeten chemotaktischen Stoffe dadurch verhinderten. Diese letzte Deutung läßt sich nun freilich nicht festhalten angesichts der Tatsache, daß die Aggressine nicht bloß wirken, wenn sie in die Blutbahn und das Bakterium an irgendeiner Stelle des Körpers eingeführt werden, sondern gerade dann besonders kräftig sind, wenn sie an gleicher Stelle wirken. Dennoch hat diese Theorie später in etwas anderer Form namentlich in W e r i g o ³⁾ und jüngst noch in N e u f e l d ⁴⁾ und C e n t a n n i ⁵⁾ Anhänger gefunden. Sie glauben nämlich das Ausbleiben der Phagozyten einfach dadurch erklären zu können, daß sie in solchen Fällen das Fehlen positiv chemotaktischer Einflüsse annehmen. Wir kommen auf diese Theorie, die sich in dieser allgemeinen Form mit dem Vorkommen von Aggressinen nicht verträgt, später zurück und sprechen hier zuerst von der B o u c h a r d s c h e n Theorie, die im wesentlichen nur noch von M e t s c h n i k o f f , dem Entdecker und ausdauernden Apostel der Phagozytentheorie, B a i l u. a. vertreten zu sein scheint, obwohl man bei diesen Forschern vergebens nach einer so scharfen Formulierung sucht, wie sie von B o u c h a r d gegeben worden ist. Wir halten uns im folgenden hauptsächlich an unsere eigenen Beobachtungen. Leicht festzustellen ist — allerdings vorwiegend durch Versuche mit den kräftigen Kulturaggressinen —, daß sie eine ausschließlich seröse Entzündung, keine Zuwanderung von Leukozyten bewirken, daß sie ferner in einem leukozytenreichen

1) S. bei B o u c h a r d a. a. O., C h a r r i n und G l e y , Arch. physiol. Ch. 1890 und 1891, C h a r r i n und G a m a l e i a , Soc. biol. 5. VII. 1890.

2) Annal. Pasteur 1891.

3) Ebenda 1894. Arch. méd. expér. 1898 und 1901; vgl. Infektionslehre.

4) Arbeit. Gesundheitsamt 27. 414, 1907.

5) Zeitschr. physiol. Chem. 55, 1908.

Exsudat der Bauchhöhle die Exsudatzellen auf den Wänden niederschlagen. Der Mechanismus dieser Leistungen ist aber keineswegs aufgeklärt (§ 280). Die Gefäße haben sehr wahrscheinlich einen wichtigen Anteil daran, aber kaum in dem Sinne, wie B o u c h a r d ihn angenommen hat (vgl. M a s s a r t und B o r d e t). Ebensowenig ist mit Sicherheit die oft gemachte Beobachtung, daß die Leukozytenzuwanderung zu einem Infektionsherd, namentlich in einem gefäßlosen Gewebe, wie in der Hornhaut, in einem gewissen Abstand zum Stillstand gebracht wird, zu verwerten. Wenn wir hier von negativ chemotaktischen (besser leukotaktischen) Einflüssen sprechen könnten, so würde doch der Umstand, daß a n d e r e S t o f f e, wie die oben schon genannten Gifte (Alkohol, Krotonöl, Milchsäure) ähnliche s e r ö s e E n t z ü n d u n g e n erzeugen, ohne im a l l g e m e i n e n a g g r e s s i v zu sein (B ü r g e r s und H ö s c h ¹), gegen ihre Bedeutung für die Erklärung der Aggressivität sprechen. Es macht den Eindruck, als ob die negative Leukotaxis eher eine Eigenschaft von besonderen den Aggressinen beigemengten Stoffen sei, da sie durch Immunserum nicht aufgehoben wird, wohl aber die Aggressivität. Immerhin soll diesen Stoffen, die nicht bloß mit den Endotoxinen, sondern auch mit den komplement bindenden (§ 325) in Beziehung gebracht werden könnten, nicht immer jede Bedeutung für die Aggressinwirkung, namentlich die nicht spezifische, abgesprochen werden.

Auf den richtigen Weg geführt werden wir aber erst, wenn wir als das Wesentliche der Aggressinwirkung gegenüber den Phagozyten nicht annehmen das Ausbleiben der Leukozyten- bzw. Phagozytenzuwanderung, die negative Chemo- oder Leukotaxis, sondern das A u s b l e i b e n d e r P h a g o z y t o s e s e l b s t i n G e g e n w a r t der Phagozyten, also, wie wir sagen möchten, die „negative Phagotaxis“. Eine solche läßt sich nach den von mir oder unter meinen Augen ausgeführten Untersuchungen (P a n e und L o t t i ²), H ö s c h und B ü r g e r s, J e ß n e r) nicht nur in der mit Leukozyten angereicherten Bauchhöhle von Tieren, sondern auch in Reagensglasversuchen bei den verschiedensten Infektionen beobachten und entspricht auch den sonst in der Literatur bei allen möglichen Infektionen gemachten Befunden (vgl. Immunitätslehre). Sie ist bei den infektiösen Bakterien (abgesehen von den Tuberkelbazillen) so sehr die Regel, daß man darauf geradezu ein Prüfungsverfahren zur Feststellung der

1) Merkwürdig genug ist diese Tatsache, zumal die betreffenden Exsudate nach unserer Erfahrung jeder bakteriziden Wirkung entbehren.

2) a. a. O. und Nuovi studi sulla infezione peritoneale in Annali d'igiene 1907.

Virulenz im Reagensglas begründen kann¹⁾. Für die Erklärung der negativen Phagotaxis steht uns freilich nur eine begrenzte Zahl von Arbeiten zur Verfügung. Nach unseren eigenen Versuchen, die die Aggressine namentlich in Ruhr-, Typhus- und Cholerabazillen betreffen, besteht kaum ein Zweifel daran, daß diese ihre negative Phagotaxis durch die Neutralisierung der Opsonine des Körpers, d. h. ihre antiopsonische Wirkung erlangen. Da wir gefunden haben, daß die Aggressine abgeschwächter Ruhr- und Cholerabazillen viel weniger wirken, als die virulenter, und daß der Wirkung Spezifität innewohnt, glauben wir in dem Grade der antiopsonischen Leistungen einen wesentlichen Faktor der Virulenz erblicken zu dürfen. Dabei soll es unentschieden bleiben, ob die Neutralisierung der Opsonine vorwiegend durch die nach außen abgegebenen oder die im Bakterienleibe vorhandenen „seßhaften“ Aggressine bewerkstelligt wird. Der Mechanismus bestände in jedem Falle in der Ablenkung der Opsonine von den Stellen der Bakterienleiber, von denen aus sie die letzteren zur Phagozytose vorbereiten oder, wie man vielleicht sagen darf, die positiv phagotaktischen Stoffe erzeugen (s. u.), und zwar in einer Ablenkung durch Bindung der Opsonine. Eine Verstärkung der Bindekraft für Opsonine wäre also hier die Voraussetzung der hohen Virulenz. Es fragt sich, ob dieses Verhältnis auch im allgemeinen nachgewiesen ist. Nur ziemlich wenige Fälle sind bisher untersucht worden, aber nicht immer mit demselben Ergebnis.

In erster Linie ist zu gedenken der von einem anderen Gesichtspunkt aus, nämlich zum Studium der Opsonine selbst ausgeführten „Absättigungsversuche“ opsonischen Serums mit Bakterien. Daß sie nicht mit lebenden Bakterien ausgeführt worden sind, ist wohl kein Grund, sie nicht für unsere Zwecke zu verwerten, da sich in vielen Fällen seit den ersten Mitteilungen von Denys und Marchand herausgestellt hat, daß, was die Freßbarkeit anlangt²⁾, kein wesentlicher Unterschied in dem Verhalten abgetöteter und lebender Keime gegen die Phagozyten besteht. Was nun die Ergebnisse der Absättigung normalen Serums mit verschiedenen Bakterienarten angeht, so glaubt die Wrightsche Schule, der wir die ersten Mitteilungen darüber verdanken, und namentlich Bulloch und Western³⁾ an die Spezifität der Bindekraft für Opsonine, indem die Behandlung eines Normalserums mit Staphylokokken, Pyocyaneus oder Tuberkelbazillen dem Serum nur die Opso-

1) Vgl. Bürgers, Über Virulenzbestimmung der Streptokokken Zentr. Gynäk. 1910, 18.

2) Anders steht es mit der Auflös- und Färbbarkeit der lebenden und toten Bakterien nach dem Fressen (vgl. S. 33).

3) Proceed. Roy. soc. 78.

nine für die betreffenden Arten raubt. Auch R o s e n o w ¹⁾ sah ähnliches eintreten, wenn er namentlich Blutserum mit Pneumo-, Strepto- oder Staphylokokken absättigte und dann das opsonische Vermögen gegen diese Bakterien und Tubelkelbazillen prüfte. Sehr häufig verursachte zwar die Absättigung einen gewissen Verlust der opsonischen Kraft, aber einen vollständigen nur in dem Falle, wenn die gleichartigen Bakterien zur Absättigung benutzt wurden. Ebenso schließt B ü r g e r s ²⁾ aus seinen Versuchen an mütterlichem und fötalem Serum auf Spezifität der Opsonine gegen Ruhrbazillen und Streptokokken. An diesen Ergebnissen wird dadurch nichts geändert, daß andere Forscher solche Unterschiede nicht beobachteten (Simon, Lamar und Bispham, York und Smith, Murri und Martin usw.). Bei den mindestens nahe verwandten Alexinen (§ 323) beobachtet man ebenfalls die Erscheinung, daß es bei solchen Versuchen auf die genaue Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse ankommt, indem offenbar gr ö ß t e Bakterienmengen das Vermögen besitzen, s ä m t l i c h e normale Schutzstoffe dem Blutserum zu entziehen. Bei den Immunopsoninen (Tropinen) ist dagegen die Spezifität der Bindung ebenso anerkannt, wie bei den Immunlysinen (§ 324). Wir gehen darauf nicht weiter ein, ebensowenig auf die nähere Erklärung der Bindung der normalen Opsonine bzw. auf ihre von manchen Seiten vermutete Zusammensetzung aus Normaltropin (auch Präparin, Hilfskörper, Aktivator genannt) und eigentlichem Opsonin oder Komplement, da diese Dinge in die Immunitätslehre gehören³⁾.

Aus diesen Erfahrungen folgt zunächst nur das Vorhandensein spezifischer und nichtspezifischer opsoninbindender Stoffe in zahlreichen Bakterien, aber noch nicht, ob die Beziehungen derselben zur Virulenz dieselben sind, wie in den von uns selbst studierten Fällen. Daß das Verhältnis auch ein anderes sein könnte, geht anscheinend aus einigen Untersuchungen hervor, die freilich nur im Reagensglas vorgenommen worden und nicht eindeutig sind.

Auch aus virulenten Pneumokokken stellten nämlich R o s e n o w (a. a. O.), T s c h i s t o w i t s c h und J o u r e w i t s c h ⁴⁾ eine die Phagozytose hindernde aggressive Substanz dar, die sie aber „Virulin“ bzw. „Antiphagin“ nennen, und deren Wirkung sie in anderer Weise erklären. Nach R o s e n o w sollten die virulenten Kokken nicht phagozytabel sein und das Opsonin gar nicht binden, die abgeschwächten stark binden und gefressen werden. Nach Ausziehen des Virulins gewannen aber die virulenten die Bindekraft der avirulenten und würden jetzt gefressen, während die abgeschwächten Kokken nach Behandlung mit Virulin die Bindekraft und Phagozytierbarkeit verlören. Ebenso konnten T s c h i s t o w i t s c h und J o u r e w i t s c h die virulenten Pneumokokken durch Ausziehen des Antiphagins phagozytabel machen. Damit wäre die Bildung n e g a t i v p h a g o t a k t i s c h e r Stoffe, die gewissermaßen durch

1) Journ. of inf. diseases. 1907.

2) Zeitschr. Immunitätsf. 5. 651, 1910.

3) Vgl. dazu G r u b e r, Zentr. Bakt. Refer. 44 Beil. S. 2 ff., 1909 und B ü r g e r s a. a. O. (Anm. 2).

4) Annal. Pasteur 1908.

„Verstopfung“ der opsoninbindenden Gruppe der Bakterienleiber wirkten, also ein zweiter Mechanismus der Aggressinwirkung bewiesen, der natürlich nur den Normalopsoninen, nicht den Immunopsoninen gegenüber Gültigkeit besäße. Leider hat Z a d e ¹⁾ in meinem Laboratorium diese Ergebnisse nicht bestätigen können. Es gelang ihm weder, virulente Pneumokokken phagozytabel zu machen, noch die Freßbarkeit avirulenter durch Behandlung mit einem nach R o s e n o w hergestellten Extrakt oder Zugabe desselben zum Serum zu verringern²⁾. Eben- sowenig glückte es uns, „kapseltragende“ Milzbrandbazillen durch gründliches Ausziehen bei höheren und niederen Temperaturen ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber den Phagozyten, also ihrer negativ phagotaktischen Stoffe zu berauben (B ü r g e r s und H ö s c h). B ü r g e r s bestätigte auch nicht die Angaben von W e i l und T s u d a ³⁾, nach der das Ausbleiben der Phagozytose von Ruhrbazillen unter dem Einfluß tierischer Aggressine auf einer Beeinflussung der Bazillen selbst, nicht auf einer antiopsonischen Wirkung beruhen sollte. In vielen Fällen gelingt es dagegen, die Kapseln, die, wie wir unten sehen werden, für das Ausbleiben der Phagozytose bei den virulenten Bakterien verantwortlich zu machen sind, durch Züchtung auf künstlichen Nährböden mehr oder weniger schnell zu entfernen und dadurch die Bakterien abzuschwächen. Beim Milzbrand war es schon bekannt, ebenso bei vielen Stämmen von Pneumokokken, daß sie schon in den ersten Kulturgenerationen auf den gewöhnlichen Nährböden ihre Kapseln verlieren, dabei erheblich an Virulenz einbüßen und phagozytabel werden. H o r i u c h i hat in G r u b e r s ⁴⁾ Laboratorium ähnliches bei Tetragenuskokken beobachtet, wenn er sie einige Tage auf „vorgetrocknetem“ Agar züchtete. Ferner soll nach G r u b e r und O k u b o die Pyocyanase innerhalb und außerhalb des Tierkörpers die Milzbrandbazillen ihrer Kapseln berauben. Es scheint freilich, als ob sie dadurch nicht ihre Widerstandsfähigkeit gegen die Phagozyten verlieren, denn wenigstens im Tier sollen sie sämtlich extrazellulär zugrunde gehen.

Ist somit über den Mechanismus der negativen Phagotaxis keine vollständige Klarheit erzielt, so ist doch das Vorkommen negativ phagotaktischer Stoffe, also nach unserer Benennung von Aggressinen mit solchem Vermögen wahrscheinlich. Wir könnten also die auf der Ablehnung besonderer negativ phagotaktischer Stoffe fußende Theorie von M a s s a r t und B o r d e t, W e r i g o, N e u f e l d und C e n t a n n i (s. o. S. 1034) auf sich beruhen lassen, wenn sie nicht eine Möglichkeit beträfe, die an sich denkbar wäre, und wenn C e n t a n n i nicht

1) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 2, 1909. Die von P r e i s z behauptete aggressive Wirkung der Kapselsubstanz wurde nicht geprüft, ebensowenig das Bindungsvermögen für Opsonin (s. aber unten § 323).

2) Vgl. unten C e n t a n n i s Arbeit. Nach N u n o k a w a (Zeitschr. f. Immunitätsforschg. 3, 1909) hemmt tierisches Pneumokokkenaggressin das Herantreten des Bakteriotropins an die Kokken. Das Aggressin wirkt also wohl unmittelbar antiopsonisch bzw. antitropisch.

3) Berl. klin. Woch. 1907. 33.

4) S. vor. S. Anm. 3.

den Versuch gemacht hätte, einen unmittelbaren Beweis für diese Auffassung zu liefern. Nach ihm, wie übrigens auch nach Neufelds rein theoretischer Voraussetzung, sollen die normalen und Immunopsonine zunächst aus den Bakterien positiv chemotaktische Stoffe frei machen. Mit diesem Gedanken könnte man sich allenfalls befreunden, obwohl unseres Erachtens die Annahme näher liegt, daß die Opsonine die negativ phagotaktischen Stoffe der Mikroben neutralisieren und dadurch die daneben vorhandenen positiv phagotaktischen zur Geltung gelangen lassen. Centanni geht nun aber noch weiter und betrachtet die Verbindung der Opsonine (o) mit den „opsoniphilen“ Gruppen¹⁾ (e) der Bakterienkörper als die eigentlichen positiv phagotaktischen Stoffe oder „Chemotropine“ (o e²⁾).

Er glaubt das erstens dadurch beweisen zu können, daß Pneumokokken, die mit Opsonin beladen und dann mit Wasser kräftig ausgewaschen worden sind, sich schwer opsonisierbar und ebenso schlecht freßbar zeigen, ohne doch abgestorben zu sein. Wir wollen beides nicht bestreiten, da wir den Versuch nicht nachgemacht haben, aber Zades Erfahrung (s. o.), daß die Pneumokokken durch das wiederholte Ausziehen sehr an Färbbarkeit verlieren, läßt uns vorläufig an dem Ergebnis Centannis zweifeln, um so mehr, da von ihm die naheliegende Virulenzprüfung unterlassen worden ist; man sollte doch annehmen, daß die Kokken durch den Verlust ihrer Phagozytierbarkeit virulenter würden. Die Wirksamkeit seiner durch Auswaschen erhaltenen Chemotropinverbindung sucht Centanni dann durch den bekannten chemotaktischen Röhrchenversuch zu stützen. Wir haben früher gesehen, wie wenig zuverlässig derartige Versuche sind (S. 911). Von seinem Standpunkt aus erklärt Centanni das Ausbleiben der Phagozytose unter natürlichen Bedingungen (d. h. doch wohl bei höchster Virulenz der Kokken) durch verschiedene Hilfsannahmen. Entweder soll sich das unter dem Einfluß der Opsoninwirkung abgestoßene Chemotropin in so reichlichen Mengen in der Flüssigkeit ansammeln, daß es die Leukozyten von den Bakterien ablenkt, oder die Leukozyten werden durch die Aufnahme von Chemotropin mit diesem übersättigt und dadurch vorübergehend ihres Freßvermögens beraubt, oder es werden drittens die Opsonine durch freiwillige Ausscheidung der opsoniphilen Substanz, wie sie in den Kulturfiltraten erfolgen soll, außerhalb der Zellen abgelenkt. Eine letzte Möglichkeit, die Verstopfung („Stomosierung“) der opsoniphilen Gruppen durch „Opsonoide“ wäre nach Centanni noch nicht nachgewiesen. Uns scheint,

1) Diese Gruppen e sollen Bestandteile der äußeren Leiberschicht der Bakterien sein, daher die Opsonine auch als „Esolysine“ den Bakteriolysinen oder Endolysinen gegenübergestellt werden. Auch nach unserer Auffassung sind die negativ phagotaktischen Stoffe, soweit sie nicht nach außen abgesondert werden, gerade in der äußeren Bakterienhülle, der „Kapsel“, angesammelt.

2) Centanni identifiziert sie, wie schon der Name besagt, mit den leukozytenanlockenden sog. chemotaktischen Stoffen.

daß dieser Nachweis auch für die übrigen Möglichkeiten noch nicht gelungen ist. Die Vielgestaltigkeit des von Centanni entworfenen Bildes, das übrigens im auffälligen Gegensatz zu den Befunden von Rosenow, Tschistowitsch und Jourewitsch und Zade bei derselben Bakterienart steht, wird noch dadurch vermehrt, daß es auch neben den durch Opsonine erst zu Chemotropinen ergänzten Stoffen noch „unabhängige“ Chemotropine (k) geben soll, die freiwillige Phagozytose bewirken. Sicher ist allerdings auch nach Zades Beobachtungen, daß manche, übrigens ganz avirulente Rassen von Pneumokokken durch Leukozyten allein — bei Ausschluß von Serum — reichlich gefressen werden.

Bis auf weiteres möchten wir die Erklärung für diese und ähnliche Fälle von freiwilliger („spontaner“) Phagozytose bei schwach oder garnicht virulenten Bakterien darin sehen, daß bei ihnen die positiv phagotaktischen Stoffe die negativ phagotaktischen weit überwiegen, so daß die letzteren gar nicht erst durch Opsonine ausgeschaltet zu werden brauchen. Bekanntlich findet sich freiwillige Phagozytose aber auch selbst bei hochinfektiösen Bakterien und Pilzen, wie z. B. Milzbrand- und Pestbazillen¹⁾. Hier ändert sich aber das Verhalten sofort, sobald diese Bakterien kurze Zeit mit Körperflüssigkeiten, namentlich Blutserum²⁾, in Berührung kommen: sie werden für die Phagozyten unangreifbar. Da sie gleichzeitig eine leicht sichtbare schleimige Hülle, eine sog. Kapsel ausbilden, ist es kein Wunder, daß man diese mit der negativen Phagotaxis in Verbindung gebracht hat und nur folgerichtig, daß wir die Kapseln für den Sitz der unter dem Einfluß des Tierkörpers ausgebildeten Aggressine ansehen (s. o. S. 1036). Damit stimmt überein, daß abgeschwächte Milzbrandbazillen nach Gruber und Futaki, Preisz³⁾ und unseren eigenen Erfahrungen die Fähigkeit der Kapselbildung in weit geringerem Grade besitzen. Daß die Kapseln freilich nicht immer mit der höheren Virulenz zusammenhängen, folgt aus ihrer Entwicklung bei vielen saprophytischen Bakterien (s. u. Schleimgärung § 128) und bei den von Danysz an Rattenserum angepaßten Milzbrandbazillen (s. u. S. 1044). vor allem aber daraus, daß die Kapsel auch die virulenten Bakterien nicht schützt gegen die Freßzellen der natürlich immunen Tiere. Wahrscheinlich ist die Kapsel nur die Grundlage für die von uns angenommenen spezifischen Angriffsstoffe und wirkt darum nur gegenüber denjenigen Abwehr-

1) Vgl. Lit. bei Eisenberg, Zentr. Bakt. 45. 148, 1907; Fischöder ebenda 51. 342, 1909.

2) Die näheren Bedingungen hat namentlich Bail (Zentr. Bakt. 46. 148, 1907) studiert (vgl. oben § 4).

3) Zentr. Bakt. 47. 585; 49. 341, 1909.

kräften, auf die jene eingestellt sind¹⁾. In anderen Fällen fehlen eigentliche Kapseln, die an den tierischen Körper besser angepaßt, von *Bail* sog. „tierischen“ Bakterien zeichnen sich aber durch eine erheblichere Größe aus, was vielleicht auf eine kräftigere Ausbildung des „Ektoplasmas“ beruht²⁾. Allzuviel Wert möchten wir auf diese und andere morphologische Eigenheiten (s. auch die Körnerbildung § 329) der virulenten Kleinwesen nicht legen, da sie doch zu unbeständig und vieldeutig sind. Die Hauptsache ist für uns, daß der Zunahme der Virulenz bei einem und demselben Mikrobienstamme im allgemeinen einer Abnahme der Phagozytierbarkeit entspricht und umgekehrt, und daß die Veränderung dieser Eigenschaften durch verschiedene Einflüsse, die wir in der Infektionslehre ausführlicher besprechen werden, bewirkt werden kann. Wir halten es für einen Vorzug unserer Aggressintheorie, daß sie diese Veränderlichkeit ebenso erklärt, wie die Enzymtheorie die Variabilität der Stoffwechselvorgänge (vgl. § 328—330).

§ 323. Antibakterizide Wirkung der Angriffsstoffe. Außer den Freßzellen verfügt der lebende Körper noch über andere Schutzmittel gegenüber den infektiösen Mikroben³⁾. Die sog. Alexine des Blutserums und der Exsudate sind unter ihnen am besten bekannt. Daß die Angriffsstoffe der Bakterien, wie es unsere Theorie verlangt, imstande sind, die bakterizide Wirkung der Alexine, und zwar in spezifischer Weise, zu neutralisieren, ist durch zahlreiche Erfahrungen bewiesen. Die ersten erfolgreichen Versuche im Reagensglas sind von mir und *Bonaduce*⁴⁾ angestellt worden (S. 1023).

1) S. Abschnitt über Schutzmittel gegen Gifte (§ 57). *Bail* und *Fischöder* wollen dagegen in den Kapseln eine Krankheitserscheinung sehen. Auf den Namen kommt es nicht an, sondern nur auf die Wirkung der Kapseln. Was die Widerstandsfähigkeit der bekapselten Milzbrandbazillen gegen Serumalexine (§ 323) angeht, so scheint nach den gründlichen Untersuchungen *Fischöders* klar zu sein, daß die Kapsel an sich sie noch nicht bedingt, die negative Phagotaxis der Kapselbazillen ist dagegen eine Tatsache, die auch durch *Fischöder* nicht umgestoßen werden kann.

2) S. bei *Eisenberg* a. a. O. und § 4.

3) Von den sog. Leukinen und Plakinen, den Absonderungen bzw. Leibesbestandteilen der Leukozyten und Blutplättchen (vgl. Infektions- und Immunitätslehre) wird im folgenden nicht gesprochen, weil wir über sie noch zu wenig *Sicheres* wissen. Sollten sie sich als wichtige Abwehrstoffe herausstellen, so zweifeln wir nicht, daß die Aggressine auch als „Antileukine“ bzw. „Antiplakine“ wirken. Auch die noch gar nicht faßbaren schädlichen Einflüsse, die von den Epithelien ausgehen und für die Immunität der Schleimhäute von Bedeutung zu sein scheinen, müssen wir hier beiseite lassen.

4) *Ziegl. Beitr.* 12. 367, 1892.

Geringe Mengen Milzbrandbazillen, die allein in Kaninchenserum eingesät, abgetötet wurden, wuchsen üppig darin, sobald gleichzeitig tote Bazillen zugesetzt wurden. Daß es sich hierbei um eine spezifische Wirkung handele, schloß ich¹⁾ damals aus einem älteren, nicht weiter verfolgten Versuch Nissens²⁾. Hier hatte nach Einspritzung größerer Mengen des *Coccus aquatilis* in den Blutstrom das defibrinierte Blut seine keimvernichtende Eigenschaft gegenüber den letzteren Bakterien verloren, nicht gegenüber den *Cholera bazillen*, nach Einspritzung der *Cholera bazillen* wieder nur sein Vernichtungsvermögen gegen diese. Auch die Beobachtung Flügges³⁾, daß in den letzten Stadien einer Infektion mit Milzbrand die keimtötende Wirkung des Blutes gegenüber den Milzbrandbazillen verschwände, deutete ich in demselben Sinne. Bastin⁴⁾ wiederholte den Versuch Nissens mit *Staphylokokken* und *B. aërogenes*, fand auch, daß die Alexine nach der Einspritzung verschwanden, aber gleichzeitig, daß diese beiden Bakterienarten sich ohne Änderung der Ergebnisse gegenseitig vertreten könnten. Ebenso meint Vandeveld⁵⁾, allerdings nur auf Grund eines einzigen Versuchs mit eintägigen Bouillonfiltraten, daß virulente und abgeschwächte *Staphylokokken* im Reagensglas die gleiche Menge alexinneutralisierender Angriffsstoffe (Lysine, Aggressine) entwickelten und wollte daraus wie aus Bastins Versuchen schließen, daß die Angriffsstoffe keine spezifischen Erzeugnisse der Bakterien seien. Genaue quantitative Vergleiche hätten hier vielleicht doch ein anderes Ergebnis gezeigt. Für die Spezifität spricht doch sehr die etwa gleichzeitig mit unseren eigenen Versuchen mit Milzbrandbazillen gemachten aber unbeachtet gebliebene Beobachtung Hankins⁶⁾, daß der Zusatz einer Spur (0,0001 und weniger) einer älteren sterilisierten und filtrierten Kultur des *Vibrio Metschnikoff* Kaninchenserum zum größten Teil seiner bakteriziden Kraft gegenüber diesen Bakterien beraubte. Hierher gehört auch eine aus dem Laboratorium Denys' stammende Angabe Havets⁷⁾, nach der schon die Zugabe von $\frac{1}{4}\%$ eines klaren Coliautolysats die Bakterizidie des Hundebbluts für *Colibazillen* stark beeinträchtigte, von $\frac{1}{2}\%$ sie fast aufhob. Vor allem folgt die Spezifität aber aus späteren Versuchen, wenn auch die Urheber derselben öfter dieselben nicht erkannten. Wir lassen die mit Hilfe des lebenden Tierkörpers gemachten beiseite, da sie verschiedener Deutung fähig sind und zum großen Teil wie die oben erwähnten mit defibriniertem, also leukozytenhaltigem Blut, nicht mit Blutserum angestellt worden sind. In erster Linie zu nennen ist außer einer Mitteilung Schneiders⁸⁾, welche die Neutralisierbarkeit der Alexine durch Filtrate von *Cholera kulturen* beobachtete, die ausführliche Arbeit Bails⁹⁾.

1) Ebenda 340.

2) Zeitschr. f. Hyg. 6. 498.

3) Zeitschr. f. Hyg. 4. 229.

4) La Cellule 8, 1892.

5) Ebenda 10. 2, 1894.

6) Zentr. Bakt. 12. 821, 1892.

7) La Cellule 10. 243.

8) Arch. f. Hyg. 28, 1897.

9) Ebenda 35, 1899.

Bail prüfte Filtrate 14 Tage alter vorher gekochter Staphylokokken mit demselben Erfolge, während er Filtrate von Typhusbouillon in den gleichen Gaben (25%) gegenüber den Kokkenalexinen fast unwirksam fand. Leider fehlt hier die Gegenprobe, die Bail nicht hätte unterlassen sollen, weil er die Neutralisierung der Alexine durch Bakterienprodukte für nicht spezifisch erklärt und sich dabei ausdrücklich auf die von Ewing¹⁾ zuerst nachgewiesene Möglichkeit bezieht, auch durch andere „Gifte“ (Schlangengift) die Serumbakterizidie aufzuheben. Sieht man sich aber Bails Zahlen genauer an, so findet man doch sichere Anzeichen spezifischer Wirkung. So folgt aus Tabelle XXVI, daß ein etwa gleich starkes Wachstum von Staphylokokken im Kaninchenserum nach Eintragen von $\frac{1}{20}$ Öse abgekochter Staphylokokkenleiber oder $\frac{1}{8}$ Öse Pyocyaneusbazillen erfolgt, umgekehrt aber das reichliche Wachstum von Pyocyaneusbazillen schon durch $\frac{1}{20}$ Öse toter Pyocyaneusbazillen, aber noch nicht durch $\frac{1}{8}$ Öse Staphylokokken ermöglicht wird. Ebenso wuchsen nach Tab. XXIX und XXX zwar Typhusbazillen nach Absättigung mit $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{2}$ Kultur abgetöteter Typhusbazillen und Cholerabazillen nach Absättigung mit $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$ Kultur toter Cholerabazillen, aber nicht die Cholera- bzw. Typhusbazillen in ebenso behandeltem Serum. Bei großen Gaben toter Bakterien verwischen sich freilich deren spezifische Unterschiede, und man kann durch jedes Bakterium schließlich sämtliche Serumwirkungen aufheben²⁾. So ergab sich z. B., daß $\frac{1}{8}$ Agarkultur Staphylokokken die Bakterizidie von 1 ccm Kaninchenserum für Cholera und Typhus, $\frac{1}{2}$ —1 Agarkultur von Typhusbazillen die Bakterizidie für Cholerabazillen vernichten. Auch Wilde³⁾ hielt die Absättigung der Alexine durch tote Bakterien für nicht spezifisch, weil sie mit dem avirulenten Bac. megatherium ebensogut wie mit dem virulenten Milzbrand gelänge und gleichzeitig die bakterizide wie die hämolytische Kraft der Alexine beträfe. Die Art der Abtötung der Bakterienleiber schien für die Wirkung ziemlich gleichgültig zu sein, und auch lebende Bakterien vermochten die Alexine oft, wenn auch nicht so regelmäßig abzusättigen. Dagegen waren sie unwirksam, wenn sie durch vorhergehende Behandlung mit Serum schon mit Alexin beladen waren.

Wilde war es übrigens auch, der den von v. Dungen⁴⁾ gelieferten Nachweis, daß das hämolytische Vermögen des Serums, und zwar dessen „Komplement“, auch durch beliebige andere Zellen abgesättigt werden könne, auf das bakterizide übertrug. Ähnlich wie Bakterien verhielten sich Hefe, tierische Zellen (außer roten Blutkörperchen) aus fremden und denselben Tieren, aus denen das Serum stammte, aber auch Aleuronat und verschiedene Kaseine, während andere „absorbierende“ Stoffe wie Ultramarin (Bail), Tierkohle, Bolus, Karmin, geronnenes Serumeiweiß nicht oder unvergleichlich schwächer wirkten. Wir kommen

1) Lancet 1894. 1237, vgl. Flexner und Noguchi, University of Pennsylvania Bull. Febr. 1902.

2) Vgl. die ähnlichen Verhältnisse bei der antiopsonischen Wirkung S. 1035 ff.

3) Arch. Hyg. 44, 1902.

4) Münch. med. Woch. 1900. 20.

später auf diese nicht spezifische Alexinabsorption zurück (§ 325).

Eine bemerkenswerte Vervollständigung erfuhren die Angaben über die alexinneutralisierenden Eigenschaften der Milzbrandbazillen durch eine Arbeit D a n y s z' ¹⁾ über die Anpassung abgeschwächter Milzbrandbazillen an das Alexin der Ratte und an Arsenik. Nach ihm gelingt sie allmählich unter gleichzeitiger Ausbildung einer schleimigen Hülle, einer „Kapsel“, die die Bazillen übrigens auch auf den gewöhnlichen festen Nährböden festhalten sollen. Daß diese Kapsel mit der größeren Widerstandsfähigkeit etwas zu tun hat, ist von vornherein wahrscheinlich, sie wirkt nach den Versuchen D a n y s z' dadurch, daß sie Alexin bindet: in der Tat entzogen die angepaßten Bazillen dem Serum mehr Alexin als die nicht angepaßten. In Bouillon ist der Mechanismus anscheinend ein anderer: die angepaßten Bazillenscheiden hier eine filtrierbare Substanz aus, die Alexin — bzw. Arsenik — unwirksam macht. Wir haben hier unseres Erachtens ein schönes Beispiel für die Identität der (in den Kapseln vorhandenen) seßhaften und der gelösten Aggressine. Der Nachprüfung bedürftig ist wohl die kurze Angabe von D a n y s z, daß die an das Rattenalexin angepaßten Bazillen dadurch keine Steigerung ihrer Virulenz (für die Ratte?) erfahren hätten. Später hat P r e i s z ²⁾ bestätigt, daß die Kapselsubstanz virulenter Milzbrandbazillen das Serumalexin zu neutralisieren vermag. Er stellt sie sich aus alten Pferdeserumkulturen durch Lösung in Alkalien, Filtration und Essigsäurefällung dar. In meinem Laboratorium haben B ü r g e r s und H ö s c h zwar durch längeres Ausziehen kapselbildender virulenter Bazillen diese nicht ihrer Kapseln und ihres Widerstands gegen die Phagozyten (s. o. S. 1038) berauben können, aber festgestellt, daß sie das Alexin stärker binden, als nicht mit Kapseln versehene virulente.

Im Anschluß an seine Arbeit über Anpassung der Typhusbazillen an Blutserum hat auch E. C o h n ³⁾ versucht, ob die gesteigerte Widerstandsfähigkeit durch antibakterizide Absonderungen zu erklären sei. Es gelang ihm zwar, wie kurz vorher W r i g h t und D o u g l a s ⁴⁾, zu zeigen, daß ein Filtrat junger T y p h u s k u l t u r e n (in erhitztem Hammelserum) in gewissem Grade das Wachstum in alexinhaltigem Serum verbesserte, aber die angepaßten Bazillen zeigten dabei keinen Vorteil vor den gewöhnlichen. Leider fehlen Absättigungsversuche mit den beiden Arten von Bazillen.

In der Folge kam B a i l, als ihm zuerst die aggressiven Eigenschaften der Exsudate auffielen, auch auf die alexinneutralisierenden Eigenschaften der Bakterien zurück und konnte in der Tat solche, wie übrigens schon früher V a n d e v e l d e (s. o.), in Staphylokokkenexsudaten, in Milzbrandexsudaten nachweisen⁵⁾, später wollten aber

1) Annal. Pasteur 1900.

2) Zentr. Bakt. 44. 209.

3) Zeitschr. f. Hyg. 45. 88, 1903.

4) Journ. of hyg. 1902.

5) Zentr. Bakt. 36. 405, 1904.

B a i l und W e i l davon nichts mehr wissen, obwohl sie in einigen Reagensglasversuchen mit wässerigen Extrakten von Typhus- und Cholerabazillen¹⁾ deutliche antibakterizide Wirkungen sahen. B ü r g e r s und H ö s c h (a. a. O.) zeigten aber, daß alle Aggressine von Dysenteriebazillen, ob sie in dieser oder jener Weise hergestellt waren, aus Tieren oder aus Kulturen stammten, die Alexine unwirksam machten, die Kochsalzaggressine freilich, entsprechend ihrer kräftigeren Leistung im Tierkörper, weitaus am besten. Gelang es doch in einem Versuch mit $\frac{1}{250}$ Tropfen dieser Aggressine, die bakterizide Wirkung von 1 ccm Meerschweinchenserum auf Ruhrbazillen völlig zu beseitigen. Diese Wirkung ist auch eine spezifische, denn nach späteren, nicht veröffentlichten Versuchen von B ü r g e r s sättigte Ruhraggressin am stärksten die Alexine für Ruhrbazillen, aber auch noch sehr kräftig die für Typhusbazillen ab, während das Typhusaggressin zwar auch noch in kleinsten Mengen die eigenen Alexine neutralisierte, aber nur in größeren Mengen die für Ruhrbazillen. Ähnliches fand J e ß n e r (S. 1026) beim Vergleich der Cholera- mit den Ruhr- und Typhusaggressinen. Wir beobachteten also im Reagensglasversuch mit Alexin die gleiche, freilich in gewissem Sinne begrenzte Spezifität der Aggressinwirkung wie im Tierversuch (s. o. S. 1027).

Entsprechend ihrer weit größeren Wirkung im Tierkörper besaßen auch die Aggressine aus virulenten Ruhr- und Cholerabazillen in unseren Versuchen ein besseres Neutralisierungsvermögen für Alexine im Reagensglas, als die Extrakte der gleichen, wenig virulenten Bakterien. Doch scheint das Verhältnis nicht immer zu bestehen.

So fanden B ü r g e r s und H ö s c h beim Vergleich von Typhusbazillen aus Kulturen und solchen, die aus dem Tierkörper entnommen und daher virulenter waren, die Leiber der tierischen Bazillen und ihre Kochsalzaggressine etwas weniger wirksam im bakteriziden Versuch, als die der „Kulturbazillen“. Das gleiche Verhältnis ergab sich aber auch bei der Prüfung der Aggressivität der Extrakte im Tier. Also auch hier besteht ein vollständiger Parallelismus zwischen den Aggressinwirkungen im Tier und im bakteriziden Reagensglasversuch (S. 1026). Wir werden später versuchen, uns den zunächst noch vorhandenen Widerspruch mit unserer Aggressintheorie zurechtzulegen (§ 328).

§ 324. Antilytische Wirkung der Angriffsstoffe. Es fragt sich jetzt, wie wir uns die eben behandelte Wirkung der Aggressine auf die Alexine, deren zusammengesetzten Bau wir seit den Forschun-

1) Zentr. Bakt. 40. 376; 42. 246 und 355.

gen B o r d e t s , E h r l i c h s und M o r g e n r o t h s u. a. kennen (vgl. Immunitätslehre), vorzustellen haben. Binden sie sich an das Komplement oder an die Ambozeptoren oder an beide? Wahrscheinlich findet im Normalserum beides statt (vgl. § 325), die spezifische und schon in kleineren Mengen ausgesprochene Wirkung der Angriffsstoffe im Normalserum spricht aber dafür, daß in erster Linie auch hier die Ambozeptoren gebunden werden. Dies stimmt mit der sicher festgestellten Tatsache zusammen, daß die A g g r e s s i n e starke Verwandtschaft zu den lytischen Ambozeptoren der Immunseren besitzen, denn durch letztere kann ihre Leistung im Tierkörper und Reagensglas aufgehoben werden.

P a n e und L o t t i , sowie B ü r g e r s und H ö s c h haben z. B. gefunden, daß Ruhrserum, dessen Schutzwirkung etwa bei 1 mg beginnt, nach einstündiger Berührung mit sehr großen Mengen Aggressins (Extrakt einer ganzen Agarkultur) in einer Gabe von 100 mg noch Meerschweinchen vor der Infektion schützt, nicht dagegen in einer Gabe von 10 mg. Man könnte zunächst zweifeln, welche der verschiedenen Bestandteile des Immunserums sich mit den Aggressinen verbinde, wenn nicht B ü r g e r s und H ö s c h durch Reagensglasversuche nachgewiesen hätten, daß genau entsprechend dem Tierversuch aus diesem Gemisch von Aggressin und 100 mg Immunserum sich noch bakterizide Ambozeptoren durch lebende Bazillen herausnehmen lassen, nicht mehr aus dem Gemisch von Aggressin und 10 mg Immunserum. Nebenbei bemerkt sei schon hier, daß auch die Agglutinine und Reagine des Immunserums — auf Präzipitin und Tropin wurde hier nicht geprüft — in genau dem gleichen Verhältnis von den Aggressinen gebunden werden, weil es ein Zeugnis dafür ist, daß im Ruhraggressin nicht bloß lysin-, sondern auch agglutinin- und reaginbindende Stoffe (s. u. § 337 u. 343), und zwar in gleichem Verhältnis vorhanden sind. Im übrigen kommen wohl zur Erklärung der Tierversuche nur die ersteren — neben den wahrscheinlich noch vorhandenen tropin(opsonin)bindenden (s. o. S. 1036) in Betracht. Von gewissem Interesse ist es, daß auch C i t r o n , D ö r r (S. 1024) und B r u s c h e t t i n i ¹⁾ durch den hämolytischen Versuch nach B o r d e t - G e n g o u die Anwesenheit von reaginbindenden Stoffen, ferner D ö r r , B a i l und W e i l die von präzipitinbindenden Stoffen in tierischen und kulturellen Aggressinen dargelegt haben. Schon vor uns hatte B a i l versucht, die Wirkung tierischer (Cholera- und Typhus-) Aggressine im Tierkörper durch Immunserum bzw. umgekehrt die des Immunserums durch Aggressin aufzuheben, aber keine klaren Ergebnisse erhalten, offenbar wegen der schwachen Wirksamkeit ihrer tierischen Aggressine (vgl. B ü r g e r s und H ö s c h); B a i l und W e i l ²⁾ gelang der Versuch dann zwar mit künstlichen Choleraaggressinen, aber B a i l und K i k u c h i ³⁾, W e i l und A x a m i t ⁴⁾, sowie

1) Zentr. Bakt. 44. 441, 1907.

2) Zentr. Bakt. 40. 375, 1906.

3) Arch. f. Hyg. 53.

4) Berl. klin. Woch. 1906. 53.

T o y o s u m i ¹⁾ glaubten durch Reagensglas- und Tierversuche feststellen zu können, daß der lytische Immunkörper dabei nicht von den Aggressinen gebunden würde, sondern die antibakterizide Wirkung des Aggressins auf irgendeine andere Weise, vor allem durch Komplementbindung mittelst der Immunpräzipitine (oder Reagine) erklärt werden müßte. Ebenso wollte W e i l ²⁾ die hemmende Wirkung der künstlichen Choleraaggressine auf die Agglutination nicht auf Bindung, sondern auf Zerstörung (Inaktivierung) der Agglutinine zurückführen. Nach den oben berichteten Versuchen von B ü r g e r s und H ö s c h liegt aber dazu kein Grund vor, die Befunde B a i l s und seiner Mitarbeiter könnten durch die mangelhafte Berücksichtigung der quantitativen und zeitlichen Bindungsverhältnisse bedingt sein oder sich dadurch erklären, daß die benutzten Choleraextrakte geringe aggressive Wirkung hatten.

Mit diesen Erfahrungen über die Bindungsfähigkeit gelöster Aggressine für bakteriolytische Ambozeptoren stimmen die mit Bakterienleibern schon früher gemachten vollständig überein, ja P f e i f f e r und F r i e d b e r g e r ³⁾ haben durch ihre Studien über die ungleiche Bindung durch virulente und abgeschwächte Bakterien wichtige Stützen für unsere Aggressinlehre erbracht. Es zeigte sich nämlich, daß die virulenten Cholera Bazillen viel mehr Ambozeptoren banden als abgeschwächte.

So entzog z. B. ein sehr virulenter Stamm, der in Gaben von $\frac{1}{10}$ Öse noch sicher tötete, einer Serumverdünnung mit dem Gehalt von 110 Immunitätseinheiten, fast die Gesamtmenge derselben, ein anderer, fast avirulenter Stamm nur etwa die Hälfte. P f e i f f e r und F r i e d b e r g e r schließen daraus, daß die virulenten Bakterien sich von den abgeschwächten entweder durch den größeren Reichtum an Rezeptoren (Hypertrophie der Bakterienrezeptoren) oder durch größere Verwandtschaft derselben zu den Immunkörpern unterscheiden. Nebenbei bemerkt wohnt den virulenten Bakterien auch eine größere Immunisierungsfähigkeit und ein kräftigeres Bindevermögen für Agglutinin, aber eine geringere Agglutinierbarkeit inne. In einer späteren Arbeit hat P f e i f f e r ⁴⁾ sich über die Bedeutung dieser Ergebnisse näher ausgelassen und setzte sie u. a. in Gegensatz zu meiner Aggressintheorie. Ein Grund dafür ist nicht einzusehen. Sehr wahrscheinlich hätten P f e i f f e r und F r i e d b e r g e r, wenn sie versucht hätten, ihre „Rezeptoren“ (seßhaften Aggressine) in Lösung zu bringen, ähnliche Ergebnisse gehabt, wie wir mit unseren Extrakt aggressinen.

Eine ganze Reihe ähnlicher Beobachtungen liegen vor über das Bindungsvermögen der Bakterien ungleicher Virulenz im Immunsérum. Während aber P f e i f f e r und F r i e d b e r g e r die Vermutung ausgesprochen hatten, Typhus- und Pestbazillen verhielten

1) Zentr. Bakt. 48. 325, 1908.

2) Arch. Hyg. 53.

3) Berl. klin. Woch. 1902. 25.

4) Festschr. f. K o c h, 1903 S. 38.

sich ähnlich wie Cholerabazillen, konnten Wassermann und Strong¹⁾ sowie Peterson²⁾ nur die Ergebnisse für letztere bestätigen, nicht für Typhus. Hier war vielmehr die Bindekraft (und Immunisierungsfähigkeit) unabhängig von der Virulenz. Dasselbe stellten später Meinecke, Jaffé und Flemming³⁾ aber auch an einer größeren Reihe von Cholerakulturen und Friedberger selbst in Verbindung mit Moreschi⁴⁾ bei ihren Studien mit dem „serumfesten“ Typhusstamm „Sprung“ fest, und zwarsowohl für Ambozeptoren als Agglutinine. Für die letzteren scheint sogar nach den Erfahrungen von P. Th. Müller⁵⁾, Eisenberg⁶⁾, Hirschberg⁷⁾, Bail und Rubritius⁸⁾ an Pyocyaneus- und Typhusbazillen die Regel zu gelten, daß sie von virulenten Bakterien fast gar nicht gebunden werden. Die schon lange bekannte mangelhafte Beeinflussung „tierischer“ Bazillen durch bakterizides und agglutinierendes Serum wäre also nicht auf eine Hypersekretion und Hypertrophie, sondern eher auf eine Atrophie bindender Substanz zurückzuführen. Indessen studierte Händel⁹⁾ neuerdings eine avirulente Cholerakultur „Ostpreußen“, die zwar Agglutinine ebenso stark band und ebenso stark von ihnen beeinflußt wurde, wie eine virulente, aber sich gegenüber den Lysinen wieder ähnlich verhielt wie die von Pfeiffer und Friedberger untersuchte Kultur, d. h. ein viel schwächeres Bindungsvermögen für sie hatte. Man bekommt sonach den Eindruck, daß eine regelmäßige Beziehung zwischen Virulenz und Bindungsvermögen für Immunkörper im Reagensglas nicht bestehe. Leider fehlt in allen diesen Fällen die Prüfung der Extrakte auf Bindungsfähigkeit und vor allem der Tierversuch mit den gelösten und seßhaften Aggressinen. Es ist also durchaus nicht ausgeschlossen, daß auch hier die Binefähigkeit für schutzkräftige Immunkörper im Reagensglas den aggressiven Leistungen im Tier entsprach. Gerade das ist aber der Punkt, der uns zunächst interessiert (vgl. im übrigen § 328).

1) Ebenda 1903 S. 534 und 537.

2) Zentr. Bakt. 38.

3) Zeitschr. f. Hyg. 52. 452.

4) Berl. klin. Woch. 1905. 45.

5) Zentr. Bakt. 38. 1.

6) Zeitschr. f. Hyg. 52. 452.

7) Arch. f. Hyg. 56.

8) Zentr. Bakt. 43. 643, 1907.

9) Arb. K. Gesundheitsamt 30. 363, 1909. Tropine konnten nicht geprüft werden, weil die Kultur schon der freiwilligen Phagozytose verfiel, das Bindungsvermögen dafür war aber gleich dem der virulenten Kultur. Immunisierungsvermögen fehlte fast völlig. Das Bindungsvermögen für Reagine war wieder viel schwächer.

§ 325. Antikomplementäre Wirkungen der Angriffsstoffe.

Natürlich fragt es sich, ob wir in dem Bindungsvermögen der Aggressine für Ambozeptoren eine genügende Erklärung für die neutralisierenden Eigenschaften im bakteriziden Versuch mit normalem Alexin gefunden haben. Nach den Vorstellungen der Ehrlich'schen Schule über die Zusammensetzung und Wirkung der Alexine besteht auf den ersten Blick die Möglichkeit, die spezifischen und die nichtspezifischen Wirkungen der Aggressine gegenüber den Alexinen (s. o. S. 1041) zu deuten, indem wir annehmen, daß die Aggressine wie die Bakterien, von denen sie stammen, sich nur mit den mehr oder weniger spezifischen normalen Ambozeptoren verbinden, und diese dann ihrerseits dem Serum komplementäre Bestandteile entziehen, die unter Umständen — namentlich bei Benutzung großer Aggressinmengen — auch auf andere nicht absorbierte Ambozeptoren passen und dadurch die Bakterizidie des Serums für fremde Bakterien teilweise oder ganz unmöglich machen. Aber auch, wenn man mit Bordet u. a. den Ambozeptor nur als einen Stoff betrachtet, der die unmittelbare Bindung des Komplements an das Bakterium vorbereitet bzw. die Aufnahmefähigkeit des letzteren für das Komplement ermöglicht oder verbessert, gewinnt man ein Verständnis für die Tatsachen: große Mengen der Bakterien oder der die bindenden Bakterienkräfte enthaltenden Aggressine entnehmen dem Serum viel oder alles Komplement, so daß es seine Bakterizidie vollständig verliert, kleine Mengen nur die (unter dem Einfluß der Ambozeptoren) mit größerer Verwandtschaft für die Bakterien ausgestatteten „spezifischen“ Anteile des Komplements.

Der Gegensatz der beiden Theorien, über die eine endgültige Entscheidung vorläufig kaum möglich ist, wird übrigens dadurch gemildert, daß auch die Ehrlich'sche Schule¹⁾ eine unmittelbare Bindung des Komplements nicht nur an Zellen verschiedener Art und kolloidale Stoffe wie Aleuronat, Kasein (v. Dungern, Wilde (S. 1043), Glykogen, Inulin, Pepton (Wendelstadt²⁾), Kohle, Seidenfäden (v. Lingelsheim³⁾) Pappe, Erde, Stroh, Brot, Urin, Serum (Uhlenhuth⁴⁾), chemische Niederschläge wie Mastix u. a. (Seligmann⁵⁾), Lipaide (Landsteiner⁶⁾), sondern auch an den Bakterienkörper bzw. bakterielle

1) Ehrlich und Sachs, Berl. klin. Woch. 1902, 14/15.

2) Zentr. Bakt. 34, 1903.

3) Zeitschr. f. Hyg. 42, 309, 1903.

4) Deutsch. med. Woch. 1906. 31 und 51.

5) Berl. klin. Woch. 1907. 32.

6) Zentr. Bakt. Refer. 38. Beilage S. 25, vgl. Landsteiner und Stankovic, Zentr. Bakt. 42.

Körperbestandteile¹⁾ zuläßt. Freilich soll nach Ehrlich diese nicht spezifische Bindung keine chemische, wie die mit Hilfe der Ambozeptoren, sondern nur eine physikalische, eine „Absorption“, sein. Besser ist es wohl, wir gestehen unsere Unkenntnis der Bindungsweise ein. Jedenfalls zeigen die Untersuchungen v. Lingelshaims, daß ähnliche Kolloide, wie Baumwolle, Hanf und namentlich Flachs und Pflanzenschleim (Carrageenmoos), nicht bloß Komplemente, sondern auch Ambozeptoren normaler Sera „binden“, und zwar so fest, daß sie auch nach Lösung daraus nicht wieder gewonnen werden können. Wo bleibt hier die Grenze zwischen Absorption und chemischer Bindung, wo der Unterschied im Verhalten zwischen Komplement und Ambozeptor zum Bakterium?

Die Untersuchungen der letzten Jahre, die sich an die Einführung des Bordet-Gengouschen Komplementablenkungsverfahrens angeschlossen, haben die Dinge nur noch verwickelter gemacht. Es hat sich zunächst gezeigt, daß Bakterienleiber wie -extrakte, d. h. auch unsere aggressiven Flüssigkeiten, für sich allein Komplement zwar zu binden vermögen, daß sie aber in Gaben, die mehr oder weniger erheblich kleiner sind, diese Bindung vollziehen, wenn sie zusammengebracht werden mit ambozeptorartigen Bestandteilen (aus Immunsorum, aber auch aus manchem Normalserum). Zunächst glaubte man es im Serum mit bakteriolytischen Ambozeptoren zu tun zu haben, dann, als man ähnliche Eigenschaften bei anderen Zellextrakten und beliebigen eiweißhaltigen Körperflüssigkeiten entdeckte, schrieb man den Niederschlägen, die durch die Präzipitine des Serums in den Bakterien- und anderen Eiweißstoffen erzeugt wurden, die bindende Fähigkeit zu, und schließlich nahm man besondere Eiweißambozeptoren (Bordet-Gengousche Ambozeptoren, Reagine) in den komplementbindenden oder besser die Komplementbindung verstärkenden Seren an. Wir kommen auf die dabei wirksamen Bestandteile der Mikroben bei den Reaginogenen zurück (§ 343), betonen aber schon hier wieder die komplementbindende Fähigkeit der nicht mit diesen Seren beladenen Bakterien und Bakterienextrakte.

Allerdings sind diese letzteren und die oben erwähnten Komplementbindungsversuche fast sämtlich mit hämolytischen Komplementen, die in vielen Fällen sicher von den bakteriolytischen verschieden sind, angestellt worden. Immerhin muß an alle diese Möglichkeiten der Komplementbindung ge-

1) Über Komplementablenkung durch lebende und tote Bakterienleiber und wässrige oder seröse Bakterienextrakte s. namentlich bei Axamit, Zentr. Bakt. 42. Über die ungleiche Wirksamkeit je nach der Herstellung vgl. auch Leuchs und Schöne § 343; ebenda Creniropoulo über die Möglichkeit, den Cholerabazillen die komplementbindenden Stoffe durch Immunsorum zu entziehen. Diese letzteren Versuche erinnern an die älteren von Pfeiffer und Friedberger, die „antagonistische“ Normalsera betreffen. Nach der Auffassung von Axamit, Bürgers und Hösch sind die wirksamen Bestandteile auch hier Bakterienstoffe, nicht vorgebildete Serumstoffe. Über Äther- und Alkoholextrakte vgl. Landsteiner und Stankovic, Zentr. Bakt. 42. Landsteiner und Raubitschek, ebenda 45 und 46; Levaditi und Mutermilch, Soc. biol. 24. X. 1908.

dacht werden, wenn man die Wirkung der Aggressine auf die Alexine zu erklären hat.

Sehen wir uns die quantitativen Verhältnisse genauer an, so erkennen wir aus eigenen Versuchen, daß die Bindung des hämolytischen Komplements in dem B o r d e t - G e n g o u s c h e n Versuch erst durch recht große Gaben unseres Dysenterie-Kochsalzaggressins allein und nur durch wenig kleinere der Serumaggressine eintritt, die Wirkung auf das Komplement also verhältnismäßig viel geringer ist als die auf das spezifische Alexin und mehr derjenigen auf das nicht spezifische ähnelt. Auch A x a - m i t (s. o.) hatte mit Choleravibrionen, Staphylokokken- und Blastomyzetenextrakten keine besseren Ergebnisse. Um Sicherheit zu gewinnen, müßten aber ähnliche Bindungsversuche mit isoliertem bakteriolytischem Komplement¹⁾ gemacht werden. Allerdings darf man dabei das Aggressin nicht in gelöster Form verwenden, weil es aus der Mischung nicht entfernt werden kann und nachträglich auch auf den Ambozeptor des bakteriolytischen Systems wirken könnte. Auf meine Veranlassung hat B ü r g e r s ²⁾ neuerdings Ruhrbazillen, die zur Darstellung der Kochsalzaggressine benutzt worden waren, im gewaschenen Zustand und als bakteriolytisches System die Vereinigung von lebenden Ruhrbazillen, Ruhrimmunsérum und Meerschweinchenkomplement benutzt. Es zeigte sich dabei daß die Bazillenleiber zwar das bakteriolytische Komplement auch, aber erst in weit stärkerer Konzentration neutralisierten bzw. banden, als das Alexin, d. h. das mit Ambozeptor vereinigte Komplement im bakteriziden Versuch. Er bedarf noch weiterer Versuche, um die Frage, namentlich auch für die nicht spezifische Wirkung der Aggressine, endgültig zu entscheiden. Vorläufig würde man aber folgern dürfen, daß das Aggressin weniger durch Komplement- als durch Ambozeptorenbindung das auf das betreffende Bakterium eingestellte Alexin unschädlich macht, während die Wirkung des Aggressins auf das nichtspezifische — auf fremde Bakterien passende — Alexin wohl mindestens zum Teil auf alleiniger Komplementbindung beruht.

§ 326. Schluß. Dies Ergebnis scheint allerdings zunächst in Widerspruch zu stehen mit unserer früheren Feststellung, nach der die antiopsonischen Eigenschaften der Aggressine die negative Phagotaxis, das Ausbleiben der Phagozytose, verursachen sollte. Fällt doch nach einer weitverbreiteten Annahme das Opsonin mit dem Komplement zusammen³⁾. Der Widerspruch ist aber wohl nur scheinbar: die Hemmung der Phagozytose erfordert nämlich, soviel wir haben feststellen können, weit erheblichere Mengen von Aggressin, als die Neutralisierung der Alexine, große Mengen binden aber auch Kom-

1) d. h. durch Verdünnung von der Ambozeptorwirkung möglichst befreitem Normalserum.

2) Nicht veröffentlicht.

3) Nach neueren Untersuchungen von B ü r g e r s (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 5, 1910) ist das übrigens wenig wahrscheinlich geworden. Vgl. auch G r u b e r (S. 1037 Anm. 3).

plement. So erklärt sich vielleicht die auf den ersten Blick wunderbare Tatsache, daß stark abgeschwächte Ruhr- und Cholerabazillen in unseren Tierversuchen mit normalen Meerschweinchen nur durch große Mengen von Aggressin, und wenn sie selbst in nicht zu kleiner Zahl vorhanden waren, zum Wachstum gebracht wurden, und virulente Bazillen in der (durch Aleuronat) entzündeten und daher mit Leukozyten und Opsoninen angereicherten Bauchhöhle dieser Tiere sich ähnlich verhielten. Die Absättigung der Ambozeptoren der Bauchhöhlenflüssigkeit gelingt leicht, daher überwuchern die gegen die Phagozyten widerstandsfähigeren virulenten Bazillen, wenn letztere auch in großer Zahl vorhanden sind, während die stark abgeschwächten, die sogar den Phagozyten ohne Serum zum Opfer fallen, trotz der Ausschaltung der Bakterizidie den Phagozyten leichter erliegen. Umgekehrt werden, wie gesagt, die nicht spezifischen Leistungen der Aggressine hauptsächlich auf ihrer komplement- bzw. opsoninbindenden Fähigkeit beruhen. Wir kommen darauf später, wenn wir von den Reizstoffen sprechen, zurück (§ 331), bemerken aber hier gleich, daß dementsprechend Wilde, Pane und Lotti auch mittelst Aleuronat gewisse aggressive Wirkungen auf Cholera- und Ruhrbazillen erzielten. Wie die übrigen nicht bakteriellen Angriffsstoffe (S. 1031) wirken, ist vorläufig dunkel.

Wir wollen übrigens nicht verschweigen, daß diese Erklärungen zunächst nur für die von uns genauer studierten Dysenterie- und Cholera-aggressine gelten. Bei Infektionen, deren Mechanismus ein anderer ist, wo z. B. wie bei den meisten Septizämien, die Phagozytose eine ausschlaggebende Rolle spielt, mag die Sache anders liegen. Hier erschweren aber drei Dinge die Erkenntnis des ursächlichen Verhaltens; erstens die verhältnismäßig weit schwächere Wirkung der Aggressine, zweitens die geringen Ausschläge, die wir entsprechend der großen Empfänglichkeit der Tiere gegen die Infektion im Reagensglasversuch erhalten, und drittens der Umstand, daß gerade bei diesen Infektionen das Verhalten des Immunserums im Reagensglasversuch bisher keine ausreichende Erklärung ihrer unzweifelhaft vorhandenen antibakteriellen Wirksamkeit geliefert hat (vgl. Infektions- und Immunitätslehre). So können wir denn auch den Versuchen Weils¹⁾ mit den Aggressinen der Hühnercholera keine maßgebende Bedeutung zuschreiben. Er arbeitete an Meerschweinchen, die von der Bauchhöhle aus für Spuren von Bazillen, von der Subkutis aus noch für Bruchteile eines Milligramms Bouillonkultur empfänglich waren. Hier mußten also die Wachstumswiderstände, die dem Erreger im Tier begegnen, außerordentlich gering sein. In der Tat ergaben Reagensglasversuche mit Serum, Leukozytenextrakten, Unterhautlymphe mit oder ohne Leukozyten usw. nicht die geringste Bakterizidie. Es ist daher nicht wunderbar, daß das natürliche Aggressin.

1) Arch. f. Hyg. 65, 1908; vgl. 61. 309, Zentr. Bakt. 44. 167. S. auch Zeh, Wirkungsweise d. Milzbrandserums usw. Berner Dissert., Bonn 1909.

das die tödliche Gabe von der Subkutis aus auf etwa den 10. Teil herabsetzte, keine nachweisbaren antibakteriziden Wirkungen im Reagensglas, bzw. keine komplementbindenden Eigenschaften im (hämolytischen) Versuch entfaltete. Erst wenn es gelänge, die offenbar dennoch im Tier vorhandenen Abwehrkräfte im Reagensglasversuch zum Vorschein zu bringen, könnte man mit Erfolg an ein Studium der Angriffskräfte gehen. So muß man entweder auf eine Erklärung verzichten oder mit weniger empfänglichen Tieren oder weniger virulenten Bakterien arbeiten.

§ 327. **Angriffsstoffe, Bakterien-Rezeptoren und Impfstoffe.** Nachdem wir die Wirkungsweise der Aggressine besprochen, wollen wir die mehrfach aufgeworfene Frage beantworten, ob die Aggressine mit den Ehrlichschen „Rezeptoren“ der Kleinwesen, d. h. den bindenden Seitenketten ihres Protoplasmas, die einerseits die bakteriziden und bakteriotropen Schutzstoffe des normalen und immunisierten Tierkörpers, die Antikörper, auf den Bakterienleibern verankern und dadurch dieselben zur Bakteriolyse und Phagozytose vorbereiten, andererseits im Tierkörper diese Schutzstoffe neutralisieren und schließlich die Bildung derselben veranlassen, d. h. immunisieren sollen, zu tun haben.

Pfeiffer und Friedberger (s. o. S. 1047) haben zuerst ausdrücklich den Zusammenhang der Rezeptoren mit der Virulenz behauptet, nach unserer Auffassung für viele Fälle mit Recht. Sie haben nur darin geirrt, daß sie die Verwandtschaft dieser Auffassung mit meiner älteren Aggressintheorie (s. o. S. 1023) verkannt haben. In der Tat, sobald man sich auf den Ehrlichschen Standpunkt (§ 279) stellt, daß dieselben „haptophoren Gruppen“ es seien, die Antitoxin neutralisieren, das Gift in den empfänglichen Zellen verankern und als Reaktion in denselben die Neubildung von Antitoxinen bewirken, ist die von Pfeiffer und Friedberger gegebene stoffliche Deutung der Virulenz und die Definition der Aggressine als freigewordener oder seßhafter Rezeptoren gegeben, denn die Alexine, Opsonine und antibakteriellen Immunkörper stellen für die Bakterien Gifte dar, indem sie sich an ihren giftempfindlichen — „giftzuleitenden“ — Bindegruppen verankern, die weniger virulenten von ihnen verfallen der Alexinwirkung unter Auflösung oder wenigstens Abtötung ihrer Substanz, die virulenten werden durch den großen Reichtum an entsprechend gestalteten, aber nicht giftempfindlichen — „giftablenkenden“ — Bindegruppen, die „Hypertrophie der Rezeptoren“ Pfeiffers vor der Vernichtung bewahrt. So wären die virulenten Bakterien gewissermaßen diejenigen, die gegen die Schutzstoffe natürlich immun oder immunisiert sind und die Aggressine, ihre Schutz- und Immunkörper. Und umgekehrt könnten die Bakterien durch ihre freien aggressiven Rezeptoren, ebenso wie durch ihre Immuntoxine im Tier die Neubildung von Schutzstoffen anregen.

Wir stehen nicht an, diese Auffassung uns im wesentlichen, mindestens für gewisse Fälle (vgl. § 328) zu eigen zu machen. Allerdings bedarf es zur Klarstellung der Sachlage gewisser erläuternder Ausführungen, um so mehr, da wir in einzelnen Punkten von den Auffassungen

der Ehrlich'schen Schule abweichen. Zunächst betreffen diese die Beziehungen der Bakterienrezeptoren und Aggressine zum Ambozeptor und Komplement.

Wie wir schon früher ausgeführt (S. 1049), müssen wir es noch unentschieden lassen, ob die Bindung des Komplements wirklich erst durch die Ambozeptoren vermittelt wird, wie Ehrlich es annimmt, und nicht vielmehr, wie Bordet meint, unmittelbar erfolgt und nur durch die Verankerung der Ambozeptoren („sensibilisierenden Substanz“) an die Bindegruppen der Bakterien begünstigt bzw. ermöglicht wird. Die von uns zur Erklärung der nicht spezifischen Wirkung von Aggressinen angenommenen, mehr oder weniger erheblichen antikomplementären Leistungen passen zu letzterer Ansicht besser, ebenso das Vorkommen der antiopsonischen Leistungen, unter der freilich zweifelhaften Voraussetzung, daß Opsonine und Komplemente zusammenfallen. Was die Art der Bindung zwischen Bakterienrezeptoren und Aggressinen einerseits und tierischen Schutzkörpern andererseits anlangt, so sind wir geneigt, abweichend von Bordet, der Ehrlich'schen Ansicht, daß es sich da um echte chemische Bindungen handelt, zuzustimmen. Von unserem Standpunkt aus fehlt dann noch ein Bedürfnis, mit Ehrlich die nicht spezifische Komplementbindung durch physikalische Absorption zu erklären, damit also zweierlei Arten von Bindungen nebeneinander anzunehmen. In allen Fällen könnten vielmehr „komplemento-“ bzw. „opsoniphile“ Bindegruppen ins Spiel kommen, deren Verwandtschaft nur durch die Bindung der spezifischen Schutzstoffe, d. h. der lytischen Ambozeptoren und Tropine, an die lysino- und tropinophilen Seitenketten der Bakterien gesteigert würde. Wie das möglich ist, wissen wir nicht, aber auch die Ehrlich'sche Vorstellung ist nur scheinbar einfacher, da wir über den Mechanismus der Komplementwirkung ebensowenig aussagen können, wenn wir uns das Komplement unmittelbar an den Ambozeptor gebunden denken. Im übrigen werden die Annahmen der Ehrlich'schen Schule über die Vielheit der Komplemente bzw. ihrer Bindegruppen dadurch nicht berührt, daß man sie an besondere komplementophile Gruppen des Bakterienprotoplasmas bzw. der Aggressine und nicht an die Ambozeptoren selbst herantreten läßt. Der Unterschied gegenüber der Ehrlich'schen Auffassung ist auch insofern nur unbedeutend, als jedenfalls die komplementophilen Gruppen im allgemeinen in engen räumlichen Beziehungen zu den lysinophilen stehen, also etwa an einem und demselben Kerne haften werden. Nur scheint das eben, wie die nichtspezifische Komplementbindung beweist, keine unumgängliche Regel zu sein.

Die Bindung der lytischen (und tropischen) Immunkörper erfolgt anscheinend in anderer Weise als die der antitoxischen (§ 275 ff.). Während die Gifte durch eine ihrer Menge proportionale Gabe Gegengift gebunden werden, können die Bakterien eine viel größere Menge von bakteriolytischen Ambozeptoren verankern, als zu ihrer Auflösung (durch Komplement im Reagensglas oder im Tierkörper) ausreicht. Pfeiffer und Friedberger¹⁾ bestimmten

1) Berl. klin. Woch. 1902. 25.

dieses Verhältnis bei virulenten Cholerabazillen auf 20—545:1, je nach der Konzentration der Ambozeptorlösung, die ihnen geboten wurde. So entzog eine Öse Cholerabazillen einer Serumverdünnung, die 22 Immunitätseinheiten enthielt¹⁾, nach 1½ständiger Berührung 20—21 derselben, einer anderen, die 550 Einheiten enthielt, 542—545. Ähnliche Verhältnisse werden wir bei der Bindung der Agglutinine und anderer Immunkörper durch die entsprechenden Seitenketten der Bakterien antreffen (§ 337 ff.). Wir können dahingestellt sein lassen, ob wir das dadurch erklären sollen, daß ein Rezeptor mit einer Menge bindender Gruppen ausgestattet ist, oder ob eine Vielheit von Rezeptoren im Bakterienkörper anzunehmen ist, von denen jeder nur eine Bindegruppe besitzt. Nötig sind dagegen mindestens für den von Pfeiffer und Friedberger studierten Fall zwei Annahmen, erstens müssen diese Bindegruppen eine ungleiche Verwandtschaft zum Immunkörper haben und zweitens ungleiche physiologische Wirkungen vermitteln, und zwar besitzen offenbar die wenig zahlreichen Seitenketten, die sich schon in stark verdünntem Immunserum mit Ambozeptoren verketteten, die größere Verwandtschaft zu ihnen und bedingen nach Zutreten des Komplements Bakteriolyse, während die weit reichlicher vertretenen Seitenketten, die sich im konzentrierten Immunserum mit Ambozeptoren sättigen, geringere Verwandtschaft zu ihnen und nur unerheblichen Einfluß auf die Bakteriolyse haben, obwohl sie ebenfalls Komplement zu binden scheinen. Wir können uns daher vielleicht vorstellen, daß die ersteren, für die Komplementwirkung empfindlicheren „giftzuleitenden“ (s. o.) Rezeptoren²⁾ an anderen gefährdeteren Stellen des Protoplasmas der Bakterien sitzen, als die zwar auch komplementbindenden, aber für die Komplementwirkung unempfindlichen („giftablenkenden“ s. o.) Seitenketten oder Aggressine.

Möglicherweise sind die letzteren auch allein oder wenigstens leichter trennbar von den Bakterienleibern³⁾ und erscheinen uns deshalb eher als gelöste Aggressine. — Augenscheinlich ist für die Erklärung der Virulenz nicht nur der Verwandtschaftsgrad, sondern auch das Zahlenverhältnis der

1) d. h. 22 mal mehr, als zur Auflösung in der Bauchhöhle von Meerschweinchen nötig war.

2) Statt empfindlicher und unempfindlicher Rezeptoren könnte man auch im Sinne der Bakterien selbst sagen schädliche und nützliche. Wir würden von Haupt- und Nebenrezeptoren sprechen, wenn diese Ausdrücke nicht schon vergeben wären für andere Begriffe (s. u.). Vgl. übrigens das bei den Reaginogenen (komplementbindenden Antigenen) Gesagte (§ 343).

3) Haften vielleicht am Ektoplasma und nicht wie die empfindlichen am Endoplasma. Vgl. S. 1039 die Darstellung Centannis und die Erörterung über die Kapseln S. 1040.

beiden Arten von Rezeptoren von Bedeutung. Leider sagen uns die bisherigen Versuche von Pfeiffer und Friedberger, ebenso wie die unsrigen nur, daß die virulenten Bakterien mehr Rezeptoren im ganzen genommen besitzen als die weniger virulenten — nichts aber über die genannten Beziehungen zwischen beiden Gruppen von Rezeptoren. Es wird vielleicht gelingen, durch weitere Versuche, namentlich mit Hilfe von Bakterienextrakten, eine bessere Einsicht zu gewinnen. Wenn aus den Versuchen von Pfeiffer und Friedberger auf eine höhere Verwandtschaft der empfindlichen Rezeptoren geschlossen werden darf, so braucht sie doch nicht so groß zu sein, daß sie unter allen Umständen zur Wirkung gelangt, z. B. könnte bei kürzerer Berührung mit dem Immunsérum eine andere Verteilung der Ambozeptoren eintreten, indem dann die vielen schwächeren Affinitäten der unempfindlichen Seitenketten durch Massenwirkung den kräftigen einen Teil der Rezeptoren vorwegnehmen. Dann hätte man eine ablenkende, also aggressive Wirkung, während bei den weniger virulenten dieselbe wegen der geringeren Menge der unempfindlichen Seitenketten nicht zustande käme. Erst recht würde dieser Unterschied sich geltend machen, wenn beide Gruppen von Rezeptoren die gleiche Verwandtschaft zu den Ambozeptoren besäßen, wie es vielleicht gegenüber den Ambozeptoren des Normalserums die Regel bildet. Schließlich könnte sich aber auch bei den virulenten Bakterien der Verwandtschaftsgrad umkehren, dann brauchten wir zur Erklärung der Virulenz keine Hypertrophie der Rezeptoren mehr (s. u. § 328).

Was die Festigkeit der Bindung zwischen Rezeptoren und antibakteriellen Schutzstoffen anbetrifft, so bestehen größere Unklarheiten als im Falle der Toxin-Antitoxinverbindung (§ 278). Allerdings lassen sich die einmal gebundenen Ambozeptoren (und Tropine) durch Auswaschen und andere Trennungsmittel ebenso schwer von den Bakterien trennen wie die Agglutinine (§ 337), das scheint aber nicht mehr oder nicht immer der Fall zu sein, wenn das Komplement und damit die Bakteriolyse hinzugetreten ist. Wenigstens haben Pfeiffer und Friedberger¹⁾ beobachtet, daß selbst kleinste Gaben Immunsérum nach Bindung an Cholera Bazillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens gegenüber frisch zugesetzten Cholera Bazillen ihre Schutzwirkung fast vollständig behalten. Das stimmt freilich nicht recht mit einer anderen Mitteilung derselben Forscher²⁾, die besagt, daß kleine Mengen von Cholera Bazillen — wie die der Agglutinogene und Toxine — nur dann ihre Immunisierungsfähigkeit bei Kaninchen verlieren, wenn sie mit großen Mengen Immunsérum beladen worden sind. Auch werden nach Toyosumi³⁾ die Ambozeptoren, die zur Bakteriolyse der Cholera Bazillen geführt haben, im Reagensglas nicht wieder frei, denn neu zugesetzte Cholera Bazillen werden trotz Vor-

1) Zentr. Bakt. 34. 77, 1903.

2) Deutsch. med. Woch. 1902. 25.

3) Zentr. Bakt. 48. 326, 1908.

handensein von Komplement nicht mehr gelöst. Bei den Ruhrbazillen ist es nach den Beobachtungen von B ü r g e r s und H ö s c h (S. 1046) nicht anders: selbst gelöste Aggressine binden den Immunkörper so fest, daß die Bindung nicht von frischen Bazillen gesprengt wird. Wir müssen abwarten, wie sich diese Unstimmigkeiten aufklären werden.

Die lysinogenen und tropinogenen Seitenketten der Bakterien sind, auch von den besprochenen Unterschieden abgesehen, nicht einheitlich gebaut. Das Studium der Beziehungen zwischen Bakterien desselben Stammes und Immunseren, die an verschiedenen Tierindividuen und -arten gewonnen sind, hat gezeigt, daß ein Bakterium unter Umständen mit einer ganzen Reihe von bindenden bzw. immunisierenden Gruppen, d. h. also von Rezeptoren für lytische Ambozeptoren und Tropine versehen sein muß. Damit stimmen auch zusammen die Beobachtungen über die Beeinflussung von Bakterien durch Immunseren, die mit anderen Stämmen oder Arten hergestellt worden sind. Wir gehen hierauf nicht näher ein, weil das so wie so geschehen muß, wenn wir von der praktischen Anwendung der Serumtherapie zu sprechen haben (vgl. Immunitätslehre), und verweisen im übrigen auf die ganz ähnlichen Verhältnisse bei den Agglutinogenen (§ 336).

Über den Mechanismus der Bakteriolyse und Bakterizidie, die die Folge der Ambozeptor- und Komplementverkettung am Bakterienleibe ist, können wir vorläufig wenig aussagen, die morphologischen Vorgänge und die Schlüsse, die sich etwa daraus ergeben könnten, haben wir schon früher (§ 11) behandelt¹). Wenn wir gezwungen sind, einen Unterschied anzunehmen zwischen den empfindlichen Rezeptoren und den unempfindlichen oder Aggressinen, so betrifft er doch im wesentlichen wohl nur den Sitz im Protoplasma der Bakterien und die biologische Leistung, überflüssig wäre es aber wohl, auch eine wesentliche Verschiedenheit der diese vermittelnden bindenden Gruppen, soweit Ambozeptoren (oder Tropine) in Betracht kommen, vorauszusetzen.

Wir kommen jetzt zum Verhältnis der Schutzstoffe bindenden, aggressiven und der immunisierenden Substanzen (lysino- und tropinogenen Impfstoffe, Antigene). Daß beide im allgemeinen in engsten Beziehungen zueinander stehen, wird durch die Tatsache sehr wahrscheinlich, daß den aggressiven Wirkungen, soweit sie überhaupt im Tierkörper überwunden werden, defensive, und zwar im wahren Sinne des Wortes immunisierende auf dem Fuße zu folgen pflegen (§ 333).

1) Vgl. Neufelds Feststellung, daß die durch Bakteriolyse im Reagensglas entstandenen Granula der Cholerabazillen noch lysinogen sind (§ 333). Über den Mechanismus der Opsonin- und Tropinwirkung s. o. § 322.

B a i l sah geradezu in der immunisierenden Fähigkeit der tierischen Aggressine eine Haupteigenschaft derselben, und W a s s e r m a n n und C i t r o n bestätigten das für die Kulturaggressine auch in den besonderen von B a i l hervorgehobenen Fällen der septizämischen Infektionen (s. o. S. 1027). Im übrigen war die immunisierende Wirkung von Bakterienfiltraten — Aufschwemmungen und Auszügen — ja seit lange bekannt, und R o g e r wies ausdrücklich darauf hin, daß das infektiösbegünstigende Filtrat der Rauschbrandbazillen später Immunität verursache (S. 1022). Auch in unserer ersten Darstellung der Aggressin-(Lysin-)Theorie spielten die Antiaggressine (-lysine) schon eine wichtige Rolle (S. 1023/4). Nur über die Art, wie die Immunkörperbildung durch die aggressiven Stoffe erfolgte, war ich selbst mir nicht klar, und ebenso ging es anderen. Auf der einen Seite betrachtete man die immunisierenden Stoffe als „Reize“, die eine „Sekretion“ von Immunkörpern veranlaßten, auf der anderen Seite glaubte man, daß die ersteren sich in die letzteren verwandelten. Die Lösung der Aufgabe erfolgte bekanntlich zuerst für die Toxine und Antitoxine, bei denen die Verhältnisse dadurch noch verwickelter zu liegen schienen, als hier die Möglichkeit, mit ungiftigen Stoffen zu immunisieren, zunächst für die Verschiedenheit der immunisierenden Stoffe und Gifte sprach. E h r l i c h klärte durch die Aufstellung seiner Toxoide diesen letzteren Widerspruch auf und gab in seiner Seitenkettentheorie die bisher am besten befriedigende Lösung des Rätsels (§ 279).

Die völlige Übereinstimmung der aggressiven und lysinogenen bzw. tropinogenen Impfstoffe, welche die E h r l i c h s c h e Theorie zunächst zu verlangen scheint, ist freilich ebensowenig nötig, als eine solche der Aggressine und Rezeptoren. Gerade die Verhältnisse, die bezüglich der Impfgifte festgestellt worden sind (§ 279), machen Vorsicht auch in unserem Falle empfehlenswert. Ein genauer Vergleich der immunisierenden und aggressiven Fähigkeiten fehlt allerdings noch, aber es liegen ziemlich zahlreiche Erfahrungen vor über die Beziehungen zwischen Virulenz, immunisierendem und Bindungsvermögen. P f e i f f e r s und F r i e d b e r g e r s Angaben, daß alle drei Eigenschaften miteinander parallel gingen (S. 1047), wurden von W a s s e r m a n n nur für die letzteren beiden, von P e t t e r s s o n und H ä n d e l für Virulenz und Immunisierungskraft, aber in keiner Weise von M e i n e c k e , J a f f é und F l e m m i n g (s. o. S. 1048), B a n g und F o r ß m a n n¹⁾, F r i e d b e r g e r und M o r e s c h i²⁾ bestätigt. Meist war die immunisierende Fähigkeit in diesen Fällen erhalten, die Bindekraft und Virulenz aber fehlten oder waren gering; in H ä n d e l s Fall war umgekehrt die immunisierende Fähigkeit (und Virulenz) verloren, das Bindungsvermögen aber mehr oder weniger erhalten. Uns interessieren hier zunächst nur

1) Hofmeisters Beitr. 8, 1906; Biochem. Zeitschr. 9, 1908 (Hämolysinbildung durch Blutkörper).

2) Berl. klin. Woch. 1905. 45 (Bakteriolysin und Agglutinin für Typhus).

die Beziehungen der immunisierenden Eigenschaft zu der bindenden. Man hat sich in verschiedener Weise mit den Tatsachen abgefunden. Während die letzteren vier Forscher durch ihre Beobachtungen die Ehrliche Theorie von der Identität der haptophoren und immunisierenden Gruppen für widerlegt halten, glauben Meinecke und seine Mitarbeiter sowie Sachs¹⁾, die Erscheinungen durch eine ungleiche „Avidität“ der an sich gleichartigen Bindégruppen im Reagensglas und Tierkörper erklären zu können. Wassermann, Pettersson, Händel, v. Liebermann²⁾ und Coca³⁾ kommen auf einen ähnlichen Gedanken heraus, suchen ihn aber noch dadurch zu verdeutlichen, daß sie annehmen, die Bindung der haptophoren Gruppen an die Körperzellen hänge ab von dem gleichzeitigen Vorhandensein eines „Reizes“, der z. B. bei den Toxinen durch eine gewisse Aktivität der „toxophoren“ Gruppe des gleichen Moleküls (Wassermann), bei den immunisierenden Stoffen der Typhusbazillen durch eine von den Bakterien gleichzeitig gelieferte hitzeempfindliche Substanz (Pettersson) abgegeben werde. Umgekehrt würde das Fehlen des Bindungsvermögens und der Virulenz (Aggressivität?⁴⁾) bei erhaltener Immunisierungsfähigkeit dafür sprechen, daß auch für die ersten beiden Eigenschaften ein besonderes Element, das wir uns wieder von stofflicher Art denken könnten, nötig wäre. Wo dasselbe fehlte, würden wir von „Aggressinoiden“ sprechen dürfen.

§ 328. Theorie der Virulenz. Wir kommen jetzt zu den Beziehungen der Virulenz zu den Aggressinen einerseits und dem Bindungsvermögen für Immunkörper bzw. Schutzstoffe andererseits. Ein völliger Parallelismus besteht eigentlich nur bei den in unserem Laboratorium untersuchten Ruhrbazillen und bei den Cholerabazillen nach Pfeiffer und Friedberger, wenn auch die letzteren nur die Virulenz (der lebenden Bakterien) und das Bindungsvermögen, nicht die Angriffsstoffe der Cholerabazillen im Tierversuch geprüft haben. Aus den zuletzt im § 327 aufgeführten Arbeiten, die freilich ebenfalls die Feststellung der Aggressivität vermissen lassen, folgt aber, daß

1) Hämolysine in Lubarsch-Ostertags Ergebnissen der Pathol. 11. Jahrg. 1, 1907.

2) Biochem. Zeitschr. 11, 1908.

3) Ebenda 14, 1908.

4) In den obigen Versuchen fehlen eigentliche Bestimmungen der Aggressivität in Aggressinversuchen, sie wären also künftig nachzuholen. Vielleicht handelt es sich auch hier nur um ein Fehlen des Bindungsvermögens im Reagensglas, nicht im Tierkörper, wobei natürlich die Aggressivität erhalten bliebe.

die Verhältnisse bei den Cholerabazillen selbst und bei anderen Bakterien nicht immer so liegen, wie in dem Falle von Pfeiffer und Friedberger. Höschs und Bürgers' früher erwähnte Beobachtungen an Typhusbazillen (S. 1045) füllten schließlich auch die eben genannte Lücke aus, indem sie zeigten, daß „tierische“ Bazillen unter Umständen zwar höhere Virulenz, aber kein größeres Bindungsvermögen und ebensowenig stärker wirkende Aggressine besitzen.

Es fragt sich, ob wir unsere Aggressintheorie nicht doch allen diesen anscheinend so widersprechenden Tatsachen anpassen können. Wir glauben wirklich, daß das möglich ist, wenn wir den S. 1053 aufgestellten Unterschied zwischen „empfindlichen“ und „unempfindlichen“, die Schutzkörper „zuleitenden“ und „ablenkenden“ Seitenketten im Bakterium im Auge behalten und uns vorstellen, daß nicht bloß die Anzahl der beiden Arten von Rezeptoren, sondern auch ihr Verwandtschaftsgrad zu den Schutzkörpern absolut und relativ verschieden sein kann. So könnte die höhere Virulenz hervorgehen:

1. aus einer absoluten Vermehrung der ablenkenden Seitenketten bei gleichbleibender Zahl von zuleitenden Seitenketten und ziemlich gleicher Verwandtschaft der beiden Gruppen zu den Schutzkörpern. Die freien oder seßhaften Aggressine, die mit den ableitenden Seitenketten zusammenfallen, würden dann bei den virulenten Bakterien, weil sie reichlicher vorhanden sind, kräftiger wirken als bei den abgeschwächten, und die virulenten Bakterien würden mehr Immunkörper binden als die avirulenten. Es ist das der von uns bei den Dysenteriebazillen und anscheinend von Pfeiffer und Friedberger bei den Choleravibrionen gefundene Fall, den Pfeiffer als Hypertrophie der Rezeptoren bezeichnet hat und der vielleicht besser als „Hyperplasie“ (Virchow) zu benennen wäre.

2. Eine zweite Möglichkeit wäre die, daß zwar die absolute Zahl und das Zahlenverhältnis der beiden Arten von Seitenketten die gleichen blieben, aber die Verwandtschaft der ablenkenden zu den Immunkörpern erheblich größer wäre als die der zuleitenden. Im Aggressinversuch würde sich das, wie im ersten Falle, durch kräftigere Wirkung der Aggressine bemerkbar machen, aber im Bindeversuch nur bei sorgfältiger Berücksichtigung der zeitlichen Verhältnisse. Bisher ist auf den letzteren Punkt nicht genügend geachtet worden. Wir besitzen vielleicht nur deshalb kein Beispiel für diesen zweiten

Fall, der eine „Hypertrophie“ der Seitenketten (im *Virchow* schen Sinne) darstellen würde.

3. Die höhere Virulenz würde aber auch erzielt werden, wenn nicht die Zahl und das Zahlenverhältnis der Rezeptoren sich änderte, sondern nur die Zahl oder Verwandtschaft der zuleitenden absolut genommen erheblich geringer wäre als die der ablenkenden. Im Aggressinversuch und Bindungsversuch wäre dann kein deutlicher Unterschied zwischen virulenten und abgeschwächten Bakterien festzustellen. Die Auflösung der mit gleichen Mengen Immunkörper beladenen Bakterien durch Komplement bzw. ihre Aufnahme durch die Phagozyten würde aber bei den virulenten Keimen weniger leicht erfolgen, als bei den abgeschwächten. Einen derartigen Fall scheinen z. B. *Hösch* und *Bürgers* beim Vergleich der tierischen mit den Kulturbazillen des Typhus vor sich gehabt zu haben.

4. Die Aggressine könnten aber sogar bei den virulenten Bakterien weniger reichlich vertreten, die Bindekraft derselben für die Schutzkörper bedeutend geringer sein als bei den abgeschwächten Bakterien, wenn nur die Zahl oder Verwandtschaft der zuleitenden Rezeptoren für die Schutzkörper noch stärker sänke als die der ablenkenden. *Ehrlich* (§ 279) hat ähnliche Vorgänge bei der antitoxischen Immunität als „Atrophie“ oder „Schwund“ der Rezeptoren bezeichnet. Mindestens der letztere Ausdruck paßt aber nicht, weil von einem völligen Schwund zuleitender Seitenketten niemals die Rede ist. Werden doch anscheinend auch die virulentesten Erreger von Immunserum beeinflusst, und sind sie doch stets nur für eine begrenzte Zahl von Tieren virulent. Wahrscheinlich fallen einige der in der Literatur beschriebenen, am Ende des letzten Paragraphen erwähnten Beobachtungen in diese Gruppe.

Im übrigen ist durch die bisher bekannten Tatsachen nur die Möglichkeit unserer Lehre bewiesen, denn die für die einzelnen Erreger gültigen Verhältnisse sind noch größtenteils unbekannt. Natürlich dürfen wir uns nicht der Täuschung hingeben, daß unsere Theorie jemals im strengen Sinne des Wortes bewiesen werden könnte; wir müssen zufrieden sein, wenn sie sich mit den Tatsachen verträgt. Die Zukunft wird darüber das letzte Wort sprechen. Sehr wohl denkbar wäre allerdings, daß durch besondere Einrichtungen die von uns angenommenen Zustände verwickelt würden, indem z. B., wenn die Darstellung von *Rosenow* richtig wäre (S. 1073), in den Aggressinen der Pneumokokken Stoffe vorhanden wären, welche nicht die Opsonine selbst, sondern die opsoniphilen — opsoninzuleitenden — Rezeptoren dieser Bakterien verstopften, oder wenn durch die leukozide (S. 1033) und negativ leukotaktische (S. 1034) Wirkung der Bakterienabsonderungen sich ein mehr oder weniger wesentlicher Teil der aggressiven Leistungen erklärte, oder wenn schließlich, worauf wir gleich (§ 329) zurückkommen werden, noch gewisse virulenzsteigernde Reizstoffe namentlich in einzelnen tierischen Organen zur Wirkung gelangten.

Nebensächlicher für unsere Lehre ist es, ob man mit Eisenberg ¹⁾ die für die Virulenz maßgebenden Kräfte erst im empfänglichen Tierkörper durch „Anpassung“, d. h. als eine Art „Reaktion“ auf die Einwirkung der tierischen Abwehrkräfte entstehen lassen und ihren Sitz mit demselben Forscher wesentlich in das „Ektoplasma“ verlegen will. Daß die Parasiten wie alle lebenden Keime reaktionsfähig sind, ist eine sehr wahrscheinliche Voraussetzung; daß derartige Anpassungen in vielen Fällen wirklich vorkommen, werden wir ja gleich in § 330 bestätigt finden, und daß sie manchmal nur kurze Zeit erfordern, lehren die Beobachtungen über die schnelle Bildung der Kapseln und das veränderte Verhalten der kapseltragenden Bakterien gegenüber den Abwehrkräften, namentlich den Freßzellen. Durch diese letztere Tatsache (vgl. § 322) wird auch die Bedeutung der „Ektoplasmahypertrophie“ in gewissem Grade wahrscheinlich gemacht. Die Hauptsache bleibt aber für uns die nähere Bestimmung der die Virulenz bedingenden Kräfte als Stoffe vom Charakter der Ehrlichen Seitenketten und die Unterscheidung der zuleitenden und ablenkenden Seitenketten. Eisenberg spricht sich in dieser Beziehung nicht klar aus, ja hält die Möglichkeit offen, daß die Kapsel nur einen mechanischen Schutz gewähre. Gerade diese Auffassung ist aber für uns unannehmbar (§ 329). — Wir müssen vielmehr die Ektoplasmahypertrophie, soweit wir sie überhaupt als Begleiterscheinung der Virulenz anerkennen können, in anderer Weise zu erklären suchen. In unserem Falle 1 und 2 läge es zwar auf den ersten Blick nahe, die reichlichere bzw. die kräftigere Ausbildung der ablenkenden Seitenketten (Aggressine) mit der des Ektoplasmas in Verbindung zu bringen. Ganz abgesehen davon, daß für unseren 3. und 4. Fall eine solche Darstellung nicht passen würde, können wir uns auch deswegen nicht recht zu ihr bekennen, weil die neu- oder umgebildeten Rezeptoren im besten Falle vermutlich nur eine so kleine Stoffmenge darstellen, daß sie allein für sich nicht eine sichtbare Vergrößerung der Zellen bewirken werden. Auch das etwaige Hinzutreten von Leukozidinen, Hämolysinen, Endotoxinen würde daran nichts ändern, da alle diese Stoffe absolut genommen wohl ebensowenig gegenüber der Grundsubstanz des Ektoplasmas, in die sie vielleicht eingebettet sind, ins Gewicht fallen. Wir müssen daher die Ektoplasmahypertrophie zwar betrachten als eine Gegenwirkung der Parasiten auf den Reiz, der von gewissen mit den Schutzstoffen wahrscheinlich nahe verwandten Schutzstoffen der tierischen Säfte ausgeübt wird (§ 4), werden auch wohl annehmen dürfen, daß diese Stoffneubildung in irgendeiner Weise zusammenhängt mit den Veränderungen der Seitenketten, die für die Virulenzsteigerung charakteristisch ist, können aber vorläufig nichts angeben über den Mechanismus, durch den das geschieht. Ebensowenig sind wir streng genommen imstande, diese Veränderungen der Rezeptoren mechanisch zu erklären. Wie man leicht sieht, entsprechen sie einigermaßen den Veränderungen, die Ehrlich im „Rezeptorenapparat“ der Tiere annimmt, um die Immunitätserscheinungen zu deuten. Ehrlich spricht dabei auch von Hypertrophie und Atrophie der tierischen Seitenketten und führt die erstere zurück auf den Ersatz bzw. Überersatz von Seitenketten, die durch die Bindung an Antigene verloren gegangen oder ausgeschaltet sind, die letztere auf irgendwie, z. B. durch Erschöpfung

1) Zentr. Bakt. 45. 638, 1907. Lit. Vgl. u. S. 1067.

erworbene Regenerationsfähigkeit der Seitenketten. Es sind das aber nur Vorstellungen, die geeignet sind, Vorgänge aus diesen wie aus anderen Gebieten der Physiologie kurz zusammenzufassen. Eine genügende mechanische Erklärung erhalten wir dadurch nicht (vgl. § 68).

§ 329. Fortsetzung. Andere Erklärungen der Virulenz. Solche sind zwar mehrfach versucht worden, erscheinen uns aber bisher lange nicht so befriedigend als die Aggressintheorie in der eben von uns dargelegten Form. Die Gifttheorie haben wir schon im § 321 besprochen¹⁾ und im wesentlichen zurückweisen müssen. Dasselbe gilt für die „Assimilationstheorie“ in der Form, wie sie namentlich B a u m - g a r t e n in seiner pathologischen Mykologie und später gelegentlich seiner Kämpfe gegen die Phagozyten, Alexine und andere Schutzstoffe²⁾ vertreten hat, denn es fehlt erstens jede Angabe über die Mittel, wodurch die virulenten Keime in den Stand gesetzt werden, den lebenden Nährboden zu assimilieren, die abgeschwächten nicht; es werden zweitens die hell am Tage liegenden W a c h s t u m s - w i d e r s t ä n d e im lebenden Tierkörper, eben die Freßzellen und Schutzstoffe, mit ganz unzureichenden Gründen weggeleugnet und schließlich auch die ebenso klare Tatsache, daß fast an allen Orten im Tierkörper, mindestens in den flüssigen Interzellulärsubstanzen und Sekreten, Nährstoffe genug für die große Mehrzahl der Klebewesen vorhanden sind, übersehen. Weit klarer und bis zu einem gewissen Grade auch berechtigter sind die Vorstellungen, die P. E h r l i c h ³⁾ neuerdings entwickelt hat, um die Virulenzunterschiede der Geschwulstzellen, Trypanosomen, Spirochäten, ferner der Erreger von Geflügel-, Menschen- und Kuhpocken, der Maul- und Klauenseuche, der Hundswut, des Trachoms usw., aber auch von manchen echten Bakterien unserem Verständnis näherzurücken.

Jedes Wachstum, das der Parasiten sowohl wie das der Wirtszellen, sei abhängig von der Verwandtschaft („Avidität“) der Zellen zu den Nährstoffen. Diese letzteren seien im Wirtskörper zum Teil in großen Mengen vorhanden und frei verfügbar, zum anderen Teil in nicht unmittelbar assimilierbarer Form, sondern in irgendeiner Weise, z. B. wie das Lecithin, an Zellbestandteile gebunden und darum nur für diejenigen Parasiten verwertbar, die es vermögen, durch stärkere Verwandtschaft oder nach Schädigung der Zellen den letzteren diese Stoffe zu entreißen. Eine letzte Gruppe von Nährstoffen sei endlich nur in beschränkten Mengen im Tier-

1) Ebenda (S. 123) s. über Hämolysine.

2) Vgl. Lit. S. 5 Anm. 1.

3) Vgl. besonders H a r b e n lectures vom 7. II. 1907 (Lancet 1907 und Beiträge zur experim. Ther. u. Chemotherapie 1910, S. 67 ff.); Nobelvortrag vom 11. XII. 1908 (ebenda S. 134); Münch. med. Woch. 1909. 5 (ebenda S. 222).

körper vorhanden und auch nur in kleinen Mengen (neben den anderen Stoffen) zur Ernährung der Parasiten nötig, es seien das die „Auxiliarstoffe“ oder „auxiliaren Wachstoffsstoffe“, für deren Verwendbarkeit auch wieder besondere Verwandtschaften erforderlich seien. Alle diese Verwandtschaften zu den Nährstoffen und damit die Möglichkeit der Assimilation bei den Parasiten, mit anderen Worten die Virulenz, erklärt Ehrlich durch das Vorhandensein von „Nutrirezeptoren“ und ebenso die mangelnde Virulenz durch das ererbte oder erworbene Fehlen, die „Atrepsie“ der einen oder anderen Art von Nutrirezeptoren, in anderen Fällen durch das Fehlen der Auxiliarstoffe im Wirtskörper selbst, die „atreptische Immunität“. Daneben läßt Ehrlich zwar nicht gegenüber den oben genannten Parasiten, aber gegenüber der großen Masse der Bakterien die bekannten Wachstumswiderstände, d. h. Schutzstoffe und Freßzellen ins Spiel treten, ohne sich übrigens näher darüber zu äußern, durch welche Mittel dieselben von den virulenten Bakterien überwunden werden.

Wir sehen aber nicht ein, warum die von uns entwickelte, durchaus den sonstigen Ehrlich'schen Anschauungen entsprechende Aggressintheorie, wenn überhaupt, nicht für alle Parasiten ohne Ausnahme Geltung verdienen soll. Daß erstens keimwidrige Kräfte, nicht bloß eine Hemmung der Assimilation, sich auch gegenüber den von Ehrlich aufgeführten Kleinwesen, wie z. B. Spirochäten und Trypanosomen, mindestens im lebenden Körper selbst bemerkbar machen, ist gar nicht zu bestreiten. Wenn gerade sie sich verhältnismäßig leicht dem Tierkörper anzupassen vermögen und auch oft schleichende Infektionen erzeugen, bei denen man von einer kräftigen Vernichtung der Parasiten nichts beobachtet, so ändert das an unserer Auffassung ebensowenig wie die Tatsache, daß die Wachstumswiderstände nicht überall im Reagensglas nachzuweisen sind (S. 1052). Anpassungen des Rezeptorenapparats (s. u. § 330) und eine Art Gleichgewicht zwischen keimwidrigen und aggressiven Kräften erklären uns die beiden ersten Tatsachen, und die mangelnde Übereinstimmung zwischen Beobachtungen im Reagensglas und lebendem Körper selbst ist ja leider ebenfalls eine bekannte Erscheinung, für die wir nur die Unvollkommenheit unserer Untersuchungsmethoden bzw. die Empfindlichkeit der Schutzstoffe und Schutzzellen verantwortlich machen können. Selbstverständlich werden auch die Wachstumsenergie und die Nährstoffansprüche bei dem Leben der Parasiten im Tierkörper eine gewisse Rolle spielen, so werden Keime, die wie die Nitrifikationsbakterien schon durch die Anwesenheit organischer Stoffe in ihrer Entwicklung gestört werden, ferner manche andere, bestimmten saprophytischen Ernährungsbedingungen angepaßte Pilze und Bakterien, wie die der Alkohol- und Essigsäuregärung, schon wegen der groben chemischen Zusammensetzung der tierischen Gewebe, wegen des relativen

Sauerstoffmangels, der zu hohen Temperaturen u. a. m. im Tierkörper, ganz abgesehen von dessen besonderen Widerstandskräften, nicht gedeihen können, manche Gewebe, Säfte und Sekrete außerdem wegen ihrer zu festen Beschaffenheit, ihres zu geringen Gehalts an Nährstoffen, ihrer Reaktion als Nährböden für Mikroben wenig oder gar nicht geeignet sein. Denjenigen Kleinwesen aber, von denen wir virulente und nicht virulente Abarten kennen, und der großen Masse der übrigen sogenannten Saprophyten, von denen wir wissen, daß sie durch Verimpfung sehr großer Gaben zum Wachstum im Tierkörper gebracht werden, dürfen wir wohl zutrauen, daß sie sämtlich imstande sind, von den im lebenden Körper gebildeten Nährstoffen ihr Dasein in ähnlicher Weise zu fristen, wie sie das in toten Geweben, Gewebsauszügen und Säften tun. Daß sie dazu besonderer „Nutrirezeptoren“ bedürfen, ist, wie wir schon in § 68 betont haben, eine vorläufig unbewiesene und auch überflüssige Annahme, da die gewöhnlichen enzymatischen Kräfte, von denen wir in den früheren Abschnitten dieses Buches des langen und breiten gesprochen haben, dazu ausreichen. Allerdings besitzen sie je nach ihrem Virulenzgrad mehr oder weniger Rezeptoren, benutzen sie aber nicht zur Ernährung, selbst, sondern um sich der keimwidrigen Einflüsse im Körper zu erwehren. Das Gesagte trifft wohl auch zu für den Zellparasitismus, wie er bei den von Ehrlich aufgeführten sogenannten Chlamydozoen, den Erregern der Blattern, Hundswut usw. besteht. Allerdings wird dieser Parasitismus nur dadurch möglich, daß die betreffenden Erreger ein größeres Assimilationsvermögen besitzen als die Zellen, die sie heimsuchen, und von denen sie sich ernähren, ohne sie vorher zu töten oder wesentlich zu schädigen. Auch hier beruht aber wohl die größere Energie in den enzymatischen Kräften. Der Umstand, daß sie sich bald dieser, bald jener Tierart anpassen, spricht unseres Erachtens nicht für die Ehrliche Deutung, sondern für die Ausbildung spezifischer Abwehrstoffe in den Wirtszellen der einzelnen Tierarten und ebenso spezifischer Rezeptoren oder Aggressine in den Parasiten. Daß die Anpassungsmöglichkeit des „Rezeptorenapparats“ auch für die extrazellulären Parasiten nachweisbar ist, werden wir gleich sehen (§ 330).

Mehr als mit den übrigen Vorstellungen Ehrlichs könnten wir uns mit der Annahme befreunden, es seien in gewissen Fällen besondere „auxiliäre Nährstoffe“ nötig, um das Wachstum der Parasiten zu erklären. Wir haben an anderer Stelle (§ 53) einen ähnlichen Gedanken ausgedrückt, sprachen aber dort von „Reizstoffen“, die die höchst auffallende Vorliebe mancher Parasiten für die einzelnen Organe, die man auch „Organvirulenz“ nennen könnte, verursacht. Bestimmte

Beweise dafür liegen allerdings noch nicht vor¹⁾ und dahingestellt sein lassen würden wir es auch, ob diese Stoffe durch Vermittelung besonderer bindender Seitenketten wirkten.

Der Begriff einer „atreptischen“ Immunität erinnert an die von Pasteur²⁾ und Klebs³⁾ aufgestellte sog. Erschöpfungstheorie, eine Erklärung der erworbenen Immunität, nach der eine Infektion sich im selben Tier nicht in derselben Weise wiederholen könne, weil sie eine für ihr Gedeihen nötige unersetzbare Substanz aufgezehrt habe. Beweise für ihr Vorkommen sind niemals erbracht worden. Auch die von Ehrlich dafür angeführte Beobachtung, daß Mäusekrebse eine Zeitlang in Ratten zur Entwicklung kommen, dann aber von selbst verschwinden, entspricht vollkommen der überall in der Infektionslehre gemachten Erfahrung, daß Infektionen im relativ immunen oder schwach immunisierten Tier sich zwar entwickeln, aber bald zum Stillstand kommen und heilen. Hier wie dort suchen wir die Ursache darin, daß die Wachstumswiderstände nicht stets und überall im immunen Tier zur Stelle sind, sondern vielfach erst durch sog. „Reaktionen“, die Zeit gebrauchen, herangeschafft werden. Unmittelbare Gegenbeweise gegen die Brauchbarkeit der Erschöpfungstheorie liegen darin, daß erstens spezifische Immunität auch ohne das Eingreifen lebender Keime erzielt werden kann, daß zweitens die Gewebe „geimpfter“ Tiere, wie schon Bitter⁴⁾ zeigte, einen gleich günstigen Nährboden für die betreffenden Erreger abgeben können, wie die ungeimpften Tiere, und daß endlich durch genügend große Gaben der Erreger meist auch beim immunisierten Tier die Infektion bewirkt werden kann.

Die gelegentlichen Beobachtungen Gamaleias⁵⁾ und Behrings⁶⁾, nach denen virulenten Milzbrandbazillen ein stärkeres Säurebildungsvermögen im Blutserum und ein schwächeres Reduktionsvermögen zukommen soll, als abgeschwächten, konnten von vornherein kaum als Grundlage für eine Erklärung der Virulenz betrachtet werden. Zum Überfluß hat Sobernheim⁷⁾ das genannte Verhältnis selbst für andere Milzbrandstämme nicht bestätigt. Ferner fehlten nach Kruse und Pansini⁸⁾ und Pasquale⁹⁾ regelmäßige Beziehungen zwischen

1) Höchstens als Analogie käme in Betracht das von Ehrlich angezogene Beispiel des Influenzabazillus, der durchaus auf einen hämoglobinhaltigen Nährboden angewiesen ist. Wie hier das Hämoglobin wirkt, ist aber außerdem durchaus nicht sicher, wohl daß es durch andere Stoffe wie z. B. lebende Xerosebazillen (M. Neißer, D. med. W. 1903. 26) ersetzt werden kann (vgl. andere Lit. darüber bei Ghon und Preyß, Zentr. Bakt. 32, 1902). Vielleicht ist das Hämoglobin keine notwendige Nahrung, sondern wirkt entweder als Reiz oder dadurch, daß es schädliche Beimengungen unserer gewöhnlichen Nährböden neutralisiert (vgl. § 57).

2) Compt. rend. ac. sc. 1891.

3) Arch. experim. Path. 13.

4) Zeitschr. f. Hyg. 4.

5) Annal. Pasteur 1888.

6) Zeitschr. f. Hyg. 6. 132.

7) Ebenda 25. 319.

8) Ebenda 11. 317 und 323.

9) Zieglers Beitr. 12.

Säurebildung, Reduktionsvermögen und Virulenz bei Pneumo- und Streptokokken.

Ebensowenig brauchbar sind die Erklärungen, die mit einer größeren allgemeinen Widerstandsfähigkeit der infektiösen Keime gegen schädigende Einflüsse und größeren Wachstumskraft in künstlichen Nährböden rechnen wollten. Eher könnte man vom Gegenteil sprechen. Ausnahmen erklären sich wohl daraus, daß in manchen Fällen die Virulenzabschwächung durch eine allgemeine Entartung der Keime erkaufte worden ist¹⁾. Die höhere Widerstandsfähigkeit ist bei den infektiösen Keimen zwar vorhanden, aber nur gegenüber den spezifischen Abwehrkräften bzw. Stoffen und hier, wie bemerkt, bedingt durch ebenso spezifische Einrichtungen zum Angriff. Die bekannten Erfahrungen über die Ausbildung von Kapseln im Tierkörper (s. o. S. 1062) könnten den Versuch nahe legen, die Widerstandsfähigkeit statt auf komplizierte Angriffsstoffe auf den rein mechanischen Schutz der Hülle zurückzuführen. Auch Eisenberg (a. a. O.) hält sich für seine „Ektoplasmatheorie“ der Virulenz diese Erklärung offen. Abgesehen davon, daß die Schleimhülle an sich, wie wir sahen, keinen genügenden Schutz gegen die tierischen Abwehrkräfte verleiht, müßte man den Keimen, die sich damit umgeben, doch wieder eine spezifische Reizbarkeit, die Kapseln gerade am Orte der Gefahr auszubilden, zuschreiben. Das setzte dann auch wieder bestimmte stoffliche Verschiedenheiten der virulenten und abgeschwächten Bakterien voraus. Wir kommen um solche nicht herum.

An Stelle der Kapseln hat man mehrfach andere morphologische Eigenschaften der Bakterien zu der Virulenz in Beziehung gebracht. Daß das für die Sporenbildung beim Milzbrand nicht zutrifft, haben Behring und Sobornheim dargetan (s. o.). Das schließt aber nicht aus, daß abgeschwächte Stämme dieser Bakterien außer anderen Zeichen der Entartung auch das Unvermögen, Sporen zu bilden, aufweisen. Nachdem von M. Neißer das Vorkommen metachromatischer Körperchen oder Polkörner (Babes, Ernst, A. Neißer, vgl. § 21 u. 22) als ein sicheres Merkmal zur Erkennung der Diphtherieerreger hingestellt worden war, haben Woithe und Marx²⁾ den Versuch gemacht, auch bei anderen Bakterien diese Bildungen als Prüfsteine der Virulenz in Anspruch zu nehmen. Weder für die Diphtheriebazillen noch für Eiterkokken, Pyocyaneusbazillen u. a. m. läßt sich aber ein solcher Zusammenhang anerkennen (Ascoli³⁾, Krompecher⁴⁾, Gauß⁵⁾, Schumburg⁶⁾, Ficker⁷⁾, eigene Erfahrungen des Verfassers). Eine Erklärung der Virulenz hätten wir übrigens auch nicht, wenn der Zusammenhang wirklich bestände.

1) Flüge und Smirnow, Zeitschr. f. Hyg. 4. 214 und 245; vgl. Kap. XVIII.

2) Zentr. Bakt. 25, 28, 29 und 31. Arch. f. Chir. 62. Deutsch. med. Woch. 1900. 28.

3) Deutsch. med. Woch. 1901. 20.

4) Zentr. Bakt. 30. 10/11.

5) Ebenda 31. 3.

6) Ebenda 31. 14.

7) Arch. f. Hyg. 46, 1903.

§ 330. Veränderlichkeit der Virulenz und Angriffsstoffe. Durch zahlreiche Erfahrungen wird bewiesen, daß die Virulenz ein Vermögen ist, das sehr großen Schwankungen unterworfen ist. Seitdem **G a ß n e r** im Jahre 1807 zuerst durch die Übertragung der Variola auf Kühe die Identität der Menschen- und Kuhpocken bewiesen und damit die **J e n n e r s c h e** Vaccination als Impfung mit abgeschwächtem Virus erkannt hat, und namentlich seitdem **P a s t e u r** Anfang der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts seine Abschwächungs- und Verstärkungsversuche mit Milzbrand, Rotlauf, Hühnercholera, Hundswut im Tierkörper und Reagensglas vorgenommen hat, ist diese Möglichkeit so oft bestätigt worden, daß kein Zweifel daran bestehen kann. Im allgemeinen bekommt man hier wie bei der Varietätenbildung überhaupt (Kap. XVIII) den Eindruck, daß dabei entweder eine allmähliche oder plötzliche **A n p a s s u n g** an den toten oder lebendigen Nährboden, oder neben der Virulenzveränderung eine mehr oder weniger allgemeine **E n t a r t u n g** der Mikroben durch die schädigenden Einflüsse physikalischer oder chemischer Natur stattfindet. Die letztere bedingt verständlicherweise regelmäßig nur den **V e r l u s t** von Eigenschaften, in unserem Falle also der Infektiosität. Ausnahmebeobachtungen wie die von **C a r o u g e a u** ¹⁾, nach der Pestkulturen bei Temperaturen von 42—44° virulenter wurden, und **O s s i** ²⁾, nach der die Besonnung auf Typhus- und Cholerabazillen einen ähnlichen Einfluß ausübte, erklären sich wohl dadurch, daß hier die virulenten Bakterien zufällig — gewöhnlich ist das nicht der Fall (s. o. S. 1067) — die größere Widerstandskraft gegenüber den betreffenden Schädlichkeiten besaßen. Im Tierkörper kann dagegen sowohl eine Abschwächung wie eine Verstärkung der Virulenz erzielt werden, und zwar geschieht das in der Weise, daß die Parasiten für das Tier, in dem sie gezüchtet werden, virulenter, für manche oder alle anderen Tierarten weniger virulent werden, ein Zeichen, in wie hohem Grade die Virulenz eine art-eigentümliche Eigenschaft ist und gleichzeitig ein Anhaltspunkt dafür, daß wir mit unserer Vorstellung über den Mechanismus der Virulenz als einer durch den Besitz spezifischer Angriffskräfte bedingten Eigenschaft auf dem richtigen Wege sind³⁾. Auch im Reagens-

1) Annal. Pasteur 1902. 844.

2) Zentr. Bakt. 43. 846, 1907.

3) Über die zahlreichen eigenen und fremden Erfahrungen, die seit **B e h r i n g** und **N i s s e n** bewiesen haben, daß auch im Reagensglas die im Tierkörper virulent gewordenen Bakterien den Immunkörpern bzw. den Phagozyten besser zu widerstehen pflegen als abgeschwächte, vgl. außer § 322 u. 323 die Immunitätslehre.

glas beobachtet man aber öfters eine Verstärkung der Virulenz, wenn man den Nährboden z. B. durch Beigabe von Blutserum oder anderen Körperbestandteilen¹⁾ eine ähnliche Zusammensetzung gibt, wie sie der lebende Tierkörper besitzt. Hier entspricht die Anpassung an die Alexine²⁾, antibakteriellen Immunkörper³⁾ usw. der Anpassung an die Abwehrkräfte des lebenden Tieres. Statt von einer „Anpassung“ hat man, wie wir oben bemerkt haben (S. 1053), auch von einer „Immunsierung“ der Infektionserreger gegen die Schutzstoffe des Körpers gesprochen. In der Tat gestattet unsere Aggressintheorie, den Vorgang ebenso aufzufassen, wie die Immunisierung der Tiere gegen die Angriffsstoffe bzw. Antigene der Mikroben, wenn auch darin ein Unterschied besteht, daß die Virulenzsteigerung oft sehr viel schneller erfolgt als die spezifische Immunisierung der Tiere. Neben der letzteren finden wir freilich auch eine schnelle Steigerung der Widerstandsfähigkeit durch die sogenannten nichtspezifischen Immunitätsreaktionen (Entzündung, Fieber vgl. § 331). Auf der anderen Seite besteht eine unbestreitbare Analogie mit dem Anpassungsvermögen der Mikroorganismen an gewisse enzymatische Tätigkeiten (§ 353). Hier wie dort antwortet die Zelle auf bestimmte Reize durch die einseitige Aus- oder Neubildung solcher Stoffe, die mit der Verarbeitung der Reize zu tun haben.

§ 331. Reiz- und Impfstoffe. Entzündungs- und Fieberstoffe. In den Abschnitten, in denen wir von dem Zusammenleben der Mikroben miteinander und mit höheren Tieren und Pflanzen sprachen (§ 47—53), haben wir festgestellt, daß es Einflüsse gibt,

1) Systematische Versuche mit Züchtung in leukozytenhaltigen Nährböden fehlen noch.

2) Walker, Brit. med. Journ. 18. X. 1902 (Typhusbaz.), Shaw ebenda 9. V. 1903 (Typhus-, Cholera- und Milzbrandbazillen). Cappelle, Zentr. Bakt. 46 (Staphylokokken, Coli-, Typhus-, Prodigiosusbazillen). Die Virulenzprüfung unterließen Trommsdorf (Arch. f. Hyg. 39) und E. Cohn (Zeitschr. f. Hyg. 45); Sacharoff (Annal. Pasteur 1897. 872) und Danysz (ebenda 1900. 643) wollten keine Virulenzerhöhung von an Alexin gewöhnten Milzbrandbazillen gefunden haben. Day (Journ. of inf. dis. 1905) hat zwar Prodigiosus-, Proteus-, Fluorescensbazillen durch Züchtung in Serum virulent machen, nicht aber ihre Widerstandsfähigkeit gegen Alexine erhöhen können. Vielleicht hätte die Prüfung des opsonischen Vermögens ein anderes Ergebnis geliefert.

3) Mosny, Arch. médic. expér. 1892 (Pneumokokken), Walker, Shaw a. a. O. (Typhus, Cholera); Morello (Annali d'igiene 1904: Pyocyaneus). Eine Unterscheidung zwischen der bakteriotropen und bakteriolytischen Kraft des Serums wurde nicht gemacht. In anderen Fällen wurde nur im Reagensglas auf Widerstand gegen Bakteriolyse (Ransom und Kitashima D. med. Woch. 1897. 19; Hamburger, Wien. klin. Woch. 1903. 4) oder Agglutinierbarkeit (s. u. § 341) geprüft.

durch welche die Mikroben sich selbst und andere Wesen schädigen oder begünstigen. Die ersteren haben wir als „Gifte“, die letzteren als „Reizstoffe“ im weitesten Sinne bezeichnet. Die Gifte haben wir in einem besonderen Abschnitt ausführlich behandelt (Kap. XVI), ebenso diejenige Gruppe von Reizstoffen, die das eigene Wachstum der Mikrobien im Tierkörper begünstigt oder überhaupt ermöglicht, die Angriffsstoffe (§ 319—330). Wir wenden uns jetzt zu denjenigen Reizstoffen, die zwar von den Mikroben erzeugt werden, aber nicht ihnen selbst, sondern dem angegriffenen Tierkörper zugute kommen, indem sie das Wachstum darin unmöglich machen oder wenigstens hemmen. Die Grundlage für die Erkenntnis derselben bildet die so merkwürdige, aber durch zahllose Erfahrungen sicher-gestellte Tatsache, daß nicht bloß lebende Infektions-erreger, sondern auch ihre Produkte imstande sind, den lebenden Körper, in den sie eingeführt werden, widerstandsfähig — immun — zu machen gegen neue Angriffe derselben und bis zu einem gewissen Grade auch anderer Art. Wenn diese Veränderung schnell eintritt, bald vorübergeht und nicht nur die eigene Art betrifft, nennen wir sie nichtspezifische Immunität¹⁾ oder auch wohl „Resistenz“; sobald sie einige Zeit zu ihrer Entwicklung gebraucht, länger dauert und arteigentümlich ist, spezifische Immunität¹⁾ oder auch Immunität an sich (vgl. diese § 333). Da die Immunitätserscheinungen im wesentlichen Gegenwirkungen des Körpers auf die Einverleibung von Infektionserregern und -stoffen darstellen, können wir sie ausführlich erst in der Infektionslehre erörtern. Wegen des Zusammenhangs, in dem sie mit den Impfstoffen stehen, interessieren sie uns aber schon hier.

Was zunächst die nichtspezifische Immunität anlangt, so setzt sie sich aus örtlichen und allgemeinen Reaktionen zusammen; die örtlichen, die man unter dem Namen der E n t z ü n d u n g zusammenzufassen pflegt, bestehen hauptsächlich in Ausscheidung seröser Flüssigkeit und Ansammlung von Zellen, die ausgewanderte Leukozyten („Mikrophagen“ Metschnikoffs) und größere einkernige, mindestens zum Teil vom Gewebe selbst gelieferte Elemente („Makrophagen“) sind. Das flüssige Exsudat wirkt durch seinen Reichtum an Alexinen

1) Genau genommen ist noch hinzuzufügen das Beiwort „erworbene“ und „antiinfektiöse“, um damit auszudrücken den Unterschied gegen die „angeborene“ bzw. „antitoxische“ Immunität. Die angeborene Immunität interessiert uns hier nicht, weil sie nicht durch die Kleinwesen hervorgerufen ist, die antitoxische haben wir schon bei den Immungiften (§ 262 ff. § 275 ff.) besprochen.

und Opsoninen, das zellige durch seine Freßfähigkeit (Phagozytose) und vielleicht auch durch seine Fähigkeit, keimwidrige Stoffe (Leukine) abzusondern, und verstärkt dadurch die im „gesunden“ Gewebe zwar nicht völlig fehlenden, aber doch wesentlich geringeren Widerstandskräfte erheblich. Die allgemeinen, nichtspezifischen Gegenwirkungen werden am besten unter dem Namen des F i e b e r s zusammengefaßt und bestehen in Temperaturerhöhung, Vermehrung der Leukozyten (Hyperleukozytose), vielleicht gelegentlich auch im Wachstum des Alexin- und Opsoningehalts im Blute, Veränderungen, die wahrscheinlich in lebhafterer Tätigkeit der mit der Neubildung dieser Bestandteile betrauten Organe (Knochenmark) und Zellen (Endothelien?) ihren Ursprung haben. Über die heilkräftige Bedeutung dieser Reaktionen, die schon vielen alten Ärzten bekannt war, besteht kaum ein Zweifel mehr¹⁾, ebensowenig darüber, daß sie in doppelter Beziehung eine nichtspezifische ist, insofern Entzündung und Fieber außer durch die von uns schon früher behandelten p y o - und p y r o g e n e n Stoffe der Mikroben (§ 280) auch durch viele andere Substanzen, z. B. Pflanzeneiweiß, Aleuronat, Nukleinsäure, Blutserum, Albumosen hervorgerufen werden und zweitens die dadurch erzeugten Wachstumswiderstände im Gewebe gegenüber allen möglichen Infektionserregern mehr oder weniger zur Geltung gelangen. Auf die Darstellung und die Eigenschaften der Entzündungs- und Fieberstoffe der Mikroorganismen brauchen wir hier nicht mehr zurückzukommen, müssen aber jetzt die Frage zu entscheiden suchen, in welcher Beziehung sie zu den giftigen und aggressiven Wirkungen stehen. Tatsache ist nämlich, daß große Mengen der gleichen Lösungen oder Aufschwemmungen, die in kleinen Gaben Entzündung und Fieber erzeugen, akuten oder chronischen Tod durch Endotoxinvergiftung verursachen (s. o. S. 917). Tatsache ist aber auch, daß die ersten, die „defensiven“ Leistungen dieser Stoffmischungen, eine gewisse Zeit erfordern, um sich zu entwickeln und daß in dieser Zwischenzeit aggressive Wirkungen bestehen. Beweise dafür könnte man vielleicht erblicken in dem Bestehen einer sog. „negativen Phase“, d. h. einer Periode verminderter Widerstandsfähigkeit, die in der Geschichte der Immunisierungen eine große Rolle spielt. Verständlich wird sie uns aber ohne weiteres aus unseren eigenen Aggressinversuchen. Zunächst werden schon unsere künstlichen oder Kulturaggressine

1) Sie richtet sich wesentlich gegen das Wachstum der Erreger, also ihre Infektiosität, zum Teil aber auch gegen deren Giftigkeit. Vgl. namentlich die Versuche, lebende und tote Bakterien in der Bauchhöhle durch Entzündung unschädlich zu machen, in der Infektionslehre.

(§ 320) in ganz ähnlicher Weise gewonnen, wie die Fieber- und Entzündungsstoffe. Die genaue Untersuchung der zeitlichen und örtlichen Verhältnisse in meinem Laboratorium durch **P a n e** und **L o t t i**, **B ü r g e r s** und **H ö s c h** (S. 1076) ergab dann weiter folgendes: Bei **i n t r a p e r i t o n e a l e r** Einverleibung der Kochsalzaggressine der Ruhrbazillen war die aggressive Wirkung in der Bauchhöhle selbst spätestens nach 24 Stunden durch die defensive ersetzt, wenn überhaupt das Tier die Aggressingabe überlebte. Wurden Aggressine ins **B l u t** eingespritzt, so war die aggressive Wirkung in der Bauchhöhle erheblich geringer und ging auch schneller in die defensive über. Bei subkutaner Einführung der Aggressine und intraperitonealer der lebenden Bazillen scheint wenigstens im Meerschweinchen die aggressive Wirkung (wieder in der Bauchhöhle) auszubleiben oder doch sehr gering zu sein, aber eine defensive spätestens nach 24 Stunden sich zu entwickeln¹⁾. Wahrscheinlich hängt das mit der langsamen Aufnahme der Bakterienstoffe in die Säfte zusammen. Denn das ist unzweifelhaft: je kleiner die Aggressingabe oder je geringer ihre Leistung, um so schneller geht der aggressive in den defensiven Einfluß über. Die gleichzeitige Untersuchung der örtlichen Erscheinungen lehrt uns dabei, daß dieser Übergang regelmäßig der Umwandlung der serösen in die eitrige Entzündung, der allgemeinen Hypo- in die Hyperleukozytose, oder, wie man auch gesagt hat, des Stadiums der negativen in das der positiven Chemo- oder Leukotaxis entspricht, und daß jede aggressive Wirkung dann ausbleibt, wenn bis zuletzt die Leukozyten im Exsudat fehlen, was wieder mit den übrigen Erscheinungen der Endotoxinvergiftung, dem Temperaturabfall und der allgemeinen Hypoleukozytose zusammenzufallen pflegt. Sollen wir nun Aggressine und Entzündungsstoffe miteinander und mit den sekundären Giften bzw. Endotoxinen identifizieren?

1) Auch **P f e i f f e r** und **F r i e d b e r g e r** (Zentr. Bakt. 50, 1908) hatten ähnliche Ergebnisse. Ihre Schlußfolgerung, die sogenannte „negative Phase“ der Autoren, die in der ersten Zeit nach Schutzimpfungen eintreten und sich durch Überempfindlichkeit gegen die betreffende (und andere) Infektionen auszeichnen soll, sei nicht nachzuweisen, scheint mir aber doch zu weit gegangen. Derartige Beobachtungen sind in der Praxis der Schutzimpfungen zu häufig gemacht worden, um sich so leicht erledigen zu lassen. Ob die negative Phase sich, wie **W r i g h t** es will, in Herabsetzung des Opsoningehalts ausdrückt, mag dahingestellt bleiben. Ebenso wissen wir noch nicht recht, ob die negative Phase auf eine vorübergehende Einbuße an spezifischen oder nichtspezifischen Schutzstoffen beruht. Da wo sie nur eine kurze Dauer hat, sollte man das letztere annehmen, wo sie länger dauert, das erstere.

Schon bei den Aggressinen (§ 321 u. 322) haben wir uns dafür entschieden, daß, obwohl unsere chemischen Trennungsmethoden versagen, der wesentliche Teil der aggressiven Leistungen von der Vergiftung und der negativen Leukotaxis unabhängig sein muß, weil trotz Fortbestehens der beiden letzteren Erscheinungen die Aggressivität der Bakterienextrakte durch Immunsorum aufgehoben werden kann. Durch die Bindungsfähigkeit der Aggressine an die Immunkörper wird das genügend erklärt. Trotzdem könnte unter Umständen sehr wohl die negative Leukotaxis am Orte der Infektion und im Blut oder allgemein gesagt die *seröse Entzündung* die Infektion begünstigen, d. h. zur Aggressivität etwas beitragen. Dafür spricht nicht nur die theoretische Erwägung, daß das Fehlen der Leukozyten und das komplement- und opsoninbindende Vermögen der Aggressine die Phagozytose und Bakterizidie hemmen muß, sondern auch die Tatsache, daß die Aggressine auch eine gewisse infektionsbegünstigende Wirkung auf fremde Keime entfalten. Daß auch dieser nicht spezifische Teil der Aggressinwirkung bei Versuchen mit großen Gaben Immunsorum nicht zur Geltung kommt, liegt vielleicht daran, daß die von den Aggressinen nicht neutralisierten Anteile der Bakteriotropine des Immunsorums den Ausfall der normalen Opsonine ersetzen, und die in der Bauchhöhle trotz der negativen Leukotaxis regelmäßig vorhandenen Freßzellen zu energischer Wirkung gelangen können. Eine freilich beschränkte Bedeutung der negativen Leukotaxis für die Aggressivität wird ferner dadurch wahrscheinlich gemacht, daß auch nicht bakterielle Stoffe, wie das Aleuronat, in der ersten Zeit ihrer Wirkung, d. h. solange die Entzündung, die sie hervorrufen, eine seröse ist, also in den ersten Stunden nach großen Gaben deutlich aggressiv sind, indem sie nach *P a n e* und *L o t t i* (S. 1052) schon dem dritten Teil der sonst infektiösen Ruhrbazillengabe zum Wachstum verhelfen. Auch hier gehen Komplementbindung und negative Leukotaxis miteinander Hand in Hand. Andere seröse Entzündung verursachende Stoffe (Alkohol, Opiumtinktur, Krotonöl, Milchsäure, deren infektionsbegünstigende Eigenschaften aus Erfahrungen mit anderen Bakterien bekannt sind¹⁾), konnten in Versuchen von *B ü r g e r s* und *H ö s c h* gegenüber Ruhrbazillen nichts ausrichten, obwohl das Exsudat sich frei von Leukozyten und wenigstens das Milchsäureexsudat auch frei von bakterizider Wirkung (von Komplement?) zeigte. Unsere Vermutung, daß die seröse Entzündung an sich aggressiv wirke, ließ sich also nicht völlig erweisen²⁾. Wie zu erwarten, entfalteten dagegen alle genannten Stoffe eine defensive Wirkung, sobald die Entzündung, die sie verursachten, aus der serösen in die eitrige überging. Obwohl die Versuche mit nicht bakteriellen Stoffen nicht ganz eindeutig ausgefallen sind, so sind sie doch in der Beziehung bemerkenswert, als sie bezeugen, daß auch einfache chemische Körper zunächst seröse, dann eitrige Entzündung erregen.

1) Vgl. Infektionslehre.

2) Das seröse Exsudat, das durch $\frac{1}{2000}$ Krotonöl hervorgerufen worden, schien sogar trotz fehlender antiseptischer Wirkung die Infektion mit Ruhrbazillen zu hemmen. Olivenöl, dessen entzündungserregende Wirkung sehr gering ist, tat das nicht trotz *G l i m m s* Behauptung (Deutsch. Zeitschr. f. Chir. 83, 1906).

Man wird daraus schließen dürfen, daß auch die bakteriellen Entzündungsstoffe nicht notwendigerweise zwei verschiedene Bestandteile, von denen der eine negativ, der andere positiv leukotaktisch wirkt, enthalten, sondern daß die anscheinend entgegengesetzten Wirkungen einerseits von der **K o n z e n t r a t i o n**, andererseits von der **Z e i t** abhängen. Wie man sich den Mechanismus dieser Erscheinungen vorzustellen habe, ist noch nicht klar. Aber man wird wohl ein Recht haben, die örtliche Leukozytenzuwanderung bzw. Neubildung als die Gegenwirkung auf ihre Verdrängung¹⁾ aufzufassen. Ebenso liegt es nahe, die Veränderung des flüssigen Exsudats, die gleichzeitig während der Entzündung stattfindet, die Steigerung seines Alexin- und Opsonin-gehalts, durch eine Gegenwirkung auf den Verlust dieser Stoffe im ersten Stadium der Entzündung zu erklären. In der Tat haben wir genug Beweise dafür, daß die Entzündungsstoffe der Bakterien und ebenso das Aleuronat Komplement binden (§325 u. 326). Wenn wir die wirksamen Bestandteile im Aleuronat als einheitliche Körper ansehen, hätten wir somit auch eine gewisse Berechtigung, die komplementbindenden und entzündungserregenden Bakterienstoffe für identisch zu halten. Ebenso könnten wir auch die Hyperleukozytose im Blut und die Temperatursteigerung als Reaktion auf die Hypoleukozytose²⁾ und eine lähmende Wirkung, welche die Fieberstoffe zunächst auf das Temperaturzentrum äußern, betrachten und die Fieberstoffe mit den Entzündungsstoffen identifizieren. Ein weiterer Schritt auf derselben Bahn wäre es nur, wenn wir annähmen, daß es die gleichen Stoffe seien, die in größten Gaben auch die tödlichen Lähmungserscheinungen verursachen, die die Endotoxinvergiftung kennzeichnen.

Unmittelbare Beweise dafür vermissen wir freilich, wenn wir absehen von dem Neben- und Nacheinandervorkommen aller dieser Wirkungen nach Einverleibung der Bakterienprodukte, und von der Widerstandsfähigkeit derselben gegenüber den bei der Darstellung benutzten Verfahren, insbesondere der Anwendung der Siedehitze. Die Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen und die Art der Darstellung unterscheidet die Entzündungsstoffe und Endotoxine auch nicht von den eigentlichen Impfstoffen (s. u. § 333 ff.), die wir trotzdem von jenen und voneinander trennen. Und die in dem Hefepreßsaft enthaltenden enzymatischen

1) Von Zerstörung kann wohl nicht gut gesprochen werden (vgl. S. 1033).

2) Daß diese fast regelmäßig der Hyperleukozytose nach Einführung von Bakterienstoffen vorhergeht, ist bekannt (vgl. Infektionslehre).

Wirkungen führen wir auch nicht auf ein einziges Enzym zurück, weil sie nebeneinander vorkommen und der Hitze nicht standhalten. Immerhin liegen die Dinge doch in unserem Falle etwas anders. Wenn wir auch den Mechanismus der Endotoxinvergiftung nur unvollkommen kennen, so liegt es doch sehr nahe, sie aufzufassen als hervorgebracht durch eine Steigerung desselben Reizes, der den fieberhaften Zustand bedingt: die bei kleinen Gaben der Fieberstoffe nur vorübergehende Lähmung bleibt bei großen Gaben bestehen. Gleichgültig ist es dabei, ob wir die von den Bakterien unmittelbar gelieferten Stoffe als die Reiz- bzw. Giftstoffe ansehen, welche die Zellen treffen oder die eigentlichen wirksamen Stoffe erst herleiten aus einer Umwandlung, welche jene ebenso wie überhaupt viele fremde Stoffe unter dem Einfluß des Organismus — z. B. seiner Komplemente erfahren (vgl. Anaphylotoxin § 344).

Unser Schluß, daß die Entzündungs- und Fieberstoffe im Grunde nicht verschieden sind von den komplementablenkenden, negativ leukotaktischen (und temperaturherabsetzenden) Stoffen, die einen Teil der Aggressine ausmachen, Reizstoffe und Aggressine, also zum Teil dasselbe sind, macht uns die Tatsache, daß Entzündung und Fieber Gegenwirkungen gegen die Infektion sind, verständlich: dadurch reihen sich die nichtspezifischen Immunitätsreaktionen den spezifischen an, die, wie wir gesehen haben und noch weiter verfolgen werden (§ 327, § 333), ja dem anderen Teil der Aggressine ihren Ursprung verdanken. Beide Gruppen von Erscheinungen folgen demselben Gesetz, das man als das biologische Gesetz des *horror vacui* bezeichnen könnte, d. h. sie schaffen dort, wo durch äußere Eingriffe Lücken in den normalen Bau der Organismen gerissen sind, Ersatz, und zwar nicht nur ausreichenden, sondern überreichlichen Ersatz. Der Unterschied zwischen den spezifischen und nichtspezifischen Gegenwirkungen besteht, abgesehen von der Spezifität selbst, in dem schnellen Eintritt und Verlauf der letzteren Reaktion. Wodurch sich diese Abweichung erklärt, wissen wir nicht, sicher ist aber, daß Entzündung und Fieber die eigentliche Immunisierung sehr zweckmäßig ergänzen, indem sie in der kritischen Zeit, bis sich die echte Immunität entwickelt, einen Schutz gegen neue Angriffe verleihen¹⁾.

§ 332. Spezifische Entzündungsstoffe. Schon S. 916 haben wir gesehen, daß wir in manchen Fällen neben nichtspezifischen Entzündungs- und Fieberstoffen spezifische annehmen müssen. Diese

1) Vgl. Infektions- und Immunitätslehre und besonders die Arbeiten von Issaëff, Zeitschr. Hyg. 16; R. Pfeiffer und Issaëff eb. 17. Siehe übrigens das über die „negative Phase“ Gesagte S. 1072 Anm. 1.

zeichnen sich zum großen Teil dadurch aus, daß sie eigentümliche Giftwirkungen anderer Art und außerdem auch spezifische (antitoxische) Immunität und Immunkörper gegen das Gift erzeugen, während das bei den ersteren nicht bekannt ist, vielmehr höchstens von einer Gewöhnung an sie gesprochen werden kann. So verhütet das Diphtherie- und Rauschbrandserum nicht nur den Tod durch die betreffenden Gifte, sondern auch die örtlichen Veränderungen¹⁾. Anscheinend unterscheiden sich diese serös-hämorrhagischen, häufig in Nekrose auslaufenden Entzündungen dadurch, daß sie das Merkmal einer Abwehreinrichtung nicht so deutlich an sich tragen, wie die gewöhnliche (eitrige) Entzündung. Im Gegenteil scheinen sie mindestens in ihrer letzten (nekrotischen) Phase das Eindringen von Keimen in das Gewebe, die Sekundärinfektionen, die meist sog. Selbstinfektionen sind, zu begünstigen.

Als spezifisch werden gewöhnlich auch die tuberkulösen, rotzigen, leprösen, aktinomykotischen Entzündungen bezeichnet, bei denen die Exsudation in den Hintergrund tritt vor den ihr nachfolgenden Neubildungsvorgängen im Gewebe selbst, die sich länger hinzuziehen und mit oder ohne Gewebszerfall in Vernarbung zu endigen pflegen. Nach einer namentlich durch Metschnikoff angebahnten Auffassung handelt es sich auch hier wie bei der gewöhnlichen (eitrigen) Entzündung um Gegenwirkungen zweckmäßiger Art, deren abweichende Charaktere sich vielleicht aus langsamerem Wachstum und größerer Widerstandsfähigkeit der Infektionserreger erklären (S. 985). Die „Makrophagen“ spielen bei ihnen die Hauptrolle, entsprechend der längeren Lebensdauer dieser Zellen und ihrem den Leukozyten fehlenden Wachstums- und Vermehrungsvermögen. Eigentümlicherweise kommen auch bei anderen, gewöhnlich akute Entzündungen verursachenden Infektionserregern, z. B. Milzbrandbazillen und Staphylokokken, gelegentlich derartige „produktive“ Entzündungen, ja tuberkelähnliche Bildungen vor (vgl. Infektionslehre).

§ 333. Lysinogene und tropinogene Impfstoffe. Die zweite Gruppe der Reizwirkungen (vgl. § 331), die eigentlichen spezifischen Immunitätsreaktionen, wurden zwar zunächst beobachtet nach Überstehen einer freiwilligen Infektion oder nach „Impfung“ mit lebenden Infektionserregern, sei es, daß sie von selbst (Jenner) oder künstlich (Pasteur) in irgendeiner Weise abgeschwächt worden waren.

1) Ähnlicher Art sind die örtlichen Veränderungen durch die S. 924 beschriebenen Gifte der Ödem- und Emphysembazillen. Ob auch sie Antitoxine erzeugen, ist noch nicht festgestellt. Auch das Kaninchengift der Ruhrbazillen erzeugt — allerdings nur vom Blut aus und im Darm — eine serös-hämorrhagische Entzündung, ist aber wieder ein Immuntoxin.

und es ist auch diese Art der Immunisierung bei einer ganzen Reihe von Infektionen — namentlich den durch Spirochäten, Protozoen und Chlamydozoen verursachten —, die einzige oder wenigstens die beste geblieben. Trotzdem war das Zustandekommen der Immunität, wenn man es sich recht überlegte, kaum anders zu deuten, als durch Vermittlung von gelösten „Impfstoffen“, und es ist auch mehrfach, freilich meist in der Form der sogenannten Retentionshypothese (Chauveau, Wernich), so gedeutet worden, besonders nachdem man sich überzeugt hatte, daß gewöhnlich schon eine rein örtliche Infektion hinreicht, um allgemeinen Impfschutz zu erzielen. Die ersten unmittelbaren Beweise für die Existenz von Impfstoffen brachten 1887 Salmon und Smith für die Hogcholerabazillen, Roux und Chamberland für das maligne Ödem und den Rauschbrand, Beumer und Peiper für den Typhus u. a. m. In der Folge gelang es auch bei den allermeisten anderen Infektionen.

Eine Ausnahme machen wie gesagt namentlich die Protozoenerkrankungen, doch hat in neuester Zeit Novy¹⁾ auch mit Stoffen von Trypanosomen gewisse Erfolge erzielt. Die Impfstoffe lassen sich in der verschiedensten Weise darstellen. Es verlohnt sich aber nicht darauf genauer einzugehen, weil die Methoden gewöhnlich keine anderen sind, als die bei der Gewinnung der Gifte (§ 272) und Angriffsstoffe (§ 320) besprochenen. So enthalten die Impfstoffe denn auch regelmäßig giftige — mindestens endotoxische — Bestandteile neben Angriffs-, Entzündungs- und Fieberstoffen (§ 331). Schon früher (S. 1022) wurde bemerkt, daß auch die von Bail in den Vordergrund gerückte Immunisierung durch tierische Aggressine, d. h. durch Exsudate und Körpergifte infizierter Tiere schon von Roger, geübt worden ist (vgl. Roux und Chamberland, Kruse und Pansini). Daß sie auch bei septizämischen Infektionen zu ersetzen sind durch Kulturaggressine, wurde, wie wir sahen, durch Wassermann, Citron und Pütz gezeigt (S. 1027).

Die Benutzung tierischer Aggressine erscheint einzig möglich für die Gewinnung von immunisierenden Stoffen bei Infektionen, deren Erreger nicht züchtbar sind (Chlamydozoen). Indessen hat sie in der von Macfadyen²⁾, Heller und Bertarelli³⁾ angewandten Form gegenüber der Hundswut nicht die gewünschten Früchte getragen.

Die zur Gewinnung von gelösten Impfstoffen aus den Bakterien erprobten Methoden sind meist schon erwähnt, so das Preßsaftverfahren von Buchner und Hahn, das Gefrierverfahren von Macfadyen und Rowland, die mechanische Zertrümmerung durch Schütteln (Wassermann s. o., Brieger und Mayer⁴⁾), Bas-

1) Abdruck aus Proceed. Soc. Experim. Biol. and Medic. 4. 42, 1907. Dialyse in Kollodiumsäckchen gegen destilliertes Wasser.

2) Zeitschr. allgem. Physiol. 3. 302, 1904, Gefrierverfahren.

3) Zentr. Bakt. 36. 216.

4) Deutsch. med. Woch. 1904. 56 und 309.

s e n g e und M a y e r ¹⁾, B a s s e n g e und K r a u s e ²⁾), das Ausziehen von „Nukleoproteiden“ durch verdünnte Lauge nach L u s t i g und G a l e o t t i, T a v e l und S c h m i t z, das Extrahieren mit Glyzerin nach F o à, G. und F. K l e m p e r e r, das Ausziehen der Bakterien bei hoher Temperatur (N e i ß e r und S h i g a ³⁾), die neuerdings empfohlene Auflösung derselben durch Antiformin (S. 1087), endlich die früher allgemein benutzte Filtration alter Kulturen. Man kann aber auch auf die künstliche Lösung verzichten und sie dem Tierkörper selbst überlassen⁴⁾, indem man einfach die durch Chloroform, feuchte Hitze (B e u m e r und P e i p e r, R. P f e i f f e r, K o l l e, W r i g h t, K r u s e), trockene Hitze von 120° (L ö f f l e r ⁵⁾) oder durch konzentrierte Zucker-, Harnstoff-, Glyzerinlösungen (E. L e v y ⁶⁾, B l u m e n t h a l und M a r x n e r) abgetöteten Bakterienleiber zur Immunisierung benutzt. Außer diesen Methoden, die für alle Bakterien brauchbar scheinen, sind noch die Auflösung von Pneumokokken durch Galle nach N e u f e l d ⁷⁾, der Tuberkel- und Milzbrandbazillen durch Lezithin nach M u c h ⁸⁾, der Typhusbazillen durch völlig wasserfreie Salzsäure (F. M e y e r und B e r g e l l ⁹⁾), ferner die Verdauung in ihren verschiedenen Formen zu nennen. Die Selbstverdauung (Autolyse) bei 37° wurde namentlich von E m m e r i c h und L ö w ¹⁰⁾, M. H a h n ¹¹⁾ bei einzelnen Bakterien mit Erfolg angewandt, gibt aber bei Trypanosomen keine Resultate¹²⁾. Eine kurze Verdauung mit Pepsin oder Trypsin schädigt nach F r i e d b e r g e r ¹³⁾ die immunisierende Kraft von Cholerabazillenleibern, die Pepsinverdauung die von Typhusbazillen nach M a t t h e s und G o t t s t e i n ¹⁴⁾ nicht erheblich, was die in gewissem Grade bewiesene Möglichkeit, durch Verfütterung von Paratyphus-, Mäusetyphus-, Coli-, Pest-, Tuberkelbazillen zu immunisieren (K u t s c h e r und M e i n e c k e ¹⁵⁾, L ö f f l e r ¹⁶⁾, S c h w a r t z ¹⁷⁾, F o r n a r i o ¹⁸⁾, C a l m e t t e und G u é r i n ¹⁹⁾) erklärt. Ob die gelösten Impfstoffe auch der längeren Verdauung widerstehen, ist unsicher.

1) Ebenda 1905. 797.

2) Ebenda 1907. 1207.

3) Ebenda 1903. 4.

4) Hierher gehört vielleicht die von Ehrlich und Uhlenhuth erprobte Immunisierung durch lebende Trypanosomen und Spirochaeten, deren Entwicklung man durch Trypanrot, Atoxyl oder das neue Ehrlich-Hatasche Mittel unterbricht.

5) Deutsch. med. Woch. 1904. 913.

6) Zentr. Bakt. 33 und 42; Mediz. Klin. 1906. 16.

7) Zeitschr. Hyg. 34, 1900, vgl. § 8.

8) Medizin. Klinik 1908. 40.

9) Ebenda 1906. 16.

10) Zeitschr. f. Hyg. 31 und 36; Zentr. Bakt. 32.

11) Münch. med. Woch. 1906. 23.

12) M. M e y e r, Zeitschr. experim. Pathol. 1, 1905.

13) Zentr. Bakt. 40.

14) Kongr. inn. Mediz. 1907.

15) Zeitschr. f. Hyg. 52, 1906.

16) Festschr. f. v. L e u t h o l d 1, 1906.

17) Zentr. Bakt. Refer. 32. 641, 1903.

18) Annal. Pasteur 1908.

19) Ebenda 1906 und 1907.

Aus dem Rahmen der übrigen Gewinnungsmethoden der Impfstoffe fällt heraus die von Neufeld¹⁾ angegebene, auf der Bakteriolyse durch spezifische Seren begründete: Cholerabazillen, die durch Choleraserum und Komplement im Reagensglas völlig in Granula aufgelöst sind, wirken noch lysinogen, und zwar die ausgewaschenen Granula etwas besser als die gelöste Substanz. Es wäre von theoretischem Interesse, zu wissen, ob das Immunisierungsvermögen beider Bestandteile erhalten bliebe, wenn sie nachträglich mit Immunserum übersättigt würden. Sobald die Übersättigung vor der Bakteriolyse erfolgt, geht es ja nach Pfeiffer und Friedberger²⁾ verloren, woraus man bekanntlich auf Identität der lysinogenen und lysinbindenden Gruppen geschlossen hat (§ 327). Gleichzeitig stellte übrigens Neufeld fest, daß die „Bakterienhüllen“, die nach Behandlung der Cholerabazillen mit 1prozentiger Kalilauge zurückblieben (§ 13), nicht lysinogen sind. Die Lösung der die Impfstoffe enthaltenden Teile geht also in diesem Falle viel weiter, als bei der Serumbakteriolyse (im Reagensglas).

Mehrfach wurde auch versucht, die Impfstoffe aus ihren Lösungen rein darzustellen. Gelungen ist das aber ebensowenig wie bei den Giften, Angriffsstoffen und Fermenten. Auch die oben genannten „Nukleoproteide“ sind offenbar nur Mischungen kleinerer Mengen der wirksamen, aber chemisch unbekannten Substanz mit großen Mengen unwirksamer Nukleoproteide. Wohl kann man dagegen einiges aussagen über die Widerstandsfähigkeit der Impfstoffe. Im großen und ganzen gilt da wohl der Satz, daß sie weniger leicht zerstörbar sind als die kräftig wirkenden Gifte, die Immuntoxine, während sie umgekehrt dadurch den meisten Endotoxinen näher stehen. So vertragen sie meist — wie die letzteren und die Angriffsstoffe —, wenn auch nicht ohne gewisse Schädigung die Siedehitze und werden durch längere Anwendung derselben, namentlich unter hohem Druck, zum größten Teil zerstört (Friedberger und Moreschi³⁾) (s. u.). Wahrscheinlich gilt diese Widerstandsfähigkeit aber nicht für alle Impfstoffe. Zum Teil möchten wir dadurch die Tatsache erklären, daß man bisher so wenig Glück gehabt hat mit der Gewinnung der Impfstoffe aus Protozoen, und daß man auch bei anderen Infektionen, wie den durch Strepto-, Pneumokokken und den Septizämiebakterien verursachten, mittelst der chemischen Immunisierung nur niedrige Grade von Immunität erzeugen, zum Hochtreiben der Immunität aber die lebenden Keime nicht entbehren kann. Zum anderen Teil mag das wohl darauf beruhen, daß die Impfstoffe in den Leibern der Mikroben nicht fertig aufgestapelt liegen, sondern — vielleicht wieder wie manche Gifte und Aggressine — erst im Tierkörper gebildet werden.

Die Wirksamkeit der Impfstoffe kann auf verschiedene Weise geprüft werden. Am sichersten, aber auch am umständlichsten ist es natürlich, die geimpften Tiere durch abgestufte Gaben der vollvirulenten Erreger auf die Probe zu stellen. Das ist oft geschehen, noch öfter hat man aber die Eigenschaften des Serums der immunisierten Tiere als Maßstab

1) Zeitschr. experim. Pathol. 6, 1909.

2) Deutsch. med. Woch. 1902. 25.

3) Zentr. Bakt. 39, 1905; vgl. Agglutinogene.

der Immunität benutzt. Das ist möglich geworden durch eine ganze Reihe wichtiger wissenschaftlicher Fortschritte.

Erstens hatten Behring und Kitasato 1890 die Antitoxine im Blutserum diphtherie- und tetanusimmuner Tiere entdeckt, damit die auf Giftschutz beruhende Immunität erklärt und die ersten sicheren Beispiele für die Übertragbarkeit der erworbenen Immunität, das Bestehen einer „passiven“ (Ehrlich) oder „Serumimmunität“ neben der bis dahin fast ausschließlich bekannten durch Impfstoffe hervorgerufenen „aktiven“ Immunität und die Heilbarkeit einer Infektion bzw. infektiösen Vergiftung durch Immunserum gegeben. Diese Entdeckung wurde in der Folge erst durch die genaue Methode Ehrlichs (§ 262) in vollem Maße nutzbar gemacht für die Prüfung der Höhe der antitoxischen Schutzkräfte. Schon seit 1888 war aber auch — zunächst durch Reagensglasversuche, seit 1890 auch durch Tierversuche — die Kenntnis antiinfektiöser Stoffe im Blutserum von gegen Milzbrandbazillen (?), Metschnikoffvibrionen, Pyocyaneusbazillen, Pneumokokken, Hogcholera-, Typhusbazillen, Choleravibrionen immunisierten Tieren und Menschen durch Nuttall, Behring und Nissen, Charrin und Roger, die Gebrüder Klemperer, Kruse und Pansini, Metschnikoff, R. Stern, Zäslein, Klemperer und Sobernheim angebahnt worden und dann (1894) die Zurückführung derselben auf Bakteriolyse durch R. Pfeiffer und (1897) auf Bakteriotropine (Immunopsonine) — die Namen selbst stammen von Neufeld und Wright — durch Denys gelungen. Der Mechanismus der bakteriolytischen und opsonischen Wirkung wurde aber erst vollständig geklärt, und die Prüfungsmethoden wurden vervollständigt durch Bordet, Ehrlich und Morgenroth, Neißer und Wechsberg, Wright, Neufeld u. a. Eine Fehlerquelle, die in den früheren bakteriziden Versuchen mit Immunserum teilweise eine Rolle gespielt hat, deckten ferner Gruber und Pfeiffer (1896) in den Agglutininen des Immunserums auf. Wir gehen auf alle diese Dinge hier nicht näher ein, weil sie in der Infektions- und Immunitätslehre ausführlich zu besprechen sind, und erwähnen nur, daß eine strenge Scheidung der antitoxischen und antiinfektiösen, der bakteriolytischen, (besser mikrobiziden) und bakteriotropen (besser mikrobi- oder germitropen) Immunität sich nur ausnahmsweise vornehmen, und auch die aktive, durch Impfstoffe erworbene Immunität sich durchaus nicht immer ausschließlich auf die antitoxischen und antiinfektiösen Eigenschaften des Blutserums der immunen Tiere zurückführen läßt, sondern häufig während der Immunisierung erworbene Eigenschaften der Zellen daneben mehr oder weniger bedeutungsvoll zu sein scheinen. Das schließt nicht aus, daß die passive Immunität, wie die gelungenen Schutz- und Heilversuche mit Immunserum lehren, allein auf den Eigenschaften der letzteren beruht, daß ferner in einzelnen Fällen (Botulismus und Tetanus?) im Immunserum nur antitoxische Kräfte wirken, in anderen die antitoxischen (Diphtherie), bakteriolytischen (Cholera) oder bakteriotropen (Pneumokokken, Streptokokken) Eigenschaften des Immunserums im Vordergrunde stehen,

während wieder in anderen, vielleicht den meisten Immunseren, wie namentlich von uns für das Ruhrserum bewiesen worden ist, alle möglichen antitoxischen und antiinfektiösen Kräfte vereinigt sind. Endlich ist der von Bail und seinen Mitarbeitern Weil usw. gemachte Versuch, noch besondere „antiaggressive“ Stoffe im Immunserum für deren Wirkung verantwortlich zu machen, gescheitert. Ich selbst habe zwar schon vor 18 Jahren von Antiaggressinen (ursprünglich „Antilysinen“) gesprochen (S. 1024), darunter aber nur die gewöhnlichen gegen die Erreger gerichteten bakteriziden Immunkörper verstanden. Auch jetzt könnte ich ihn noch aufrecht erhalten von der Voraussetzung ausgehend, daß die Aggressine es sind, auf die die Immunkörper wirken, und daß sie auch, weil sie mit den Impfstoffen zusammenfallen, die Immunkörperbildung anregen (s. u.). Im übrigen würde ich aber jetzt, entsprechend unseren heutigen Kenntnissen von den antiinfektiösen Kräften des Immunserums, unter den Antiaggressinen die mikrobiziden und mikrobotropen Stoffe des Serums zusammenfassen. Daß ich damit recht habe, wird dadurch bewiesen, daß Bails Antiaggressine der Cholera, des Typhus, der Ruhr wahrscheinlich nichts anderes sind als Bakteriotropine, die in dem betreffenden Serum neben den Bakteriolytinen vorhanden sind und bei der von Bail benutzten Versuchsanordnung in der mit Leukozyten angereicherten Bauchhöhle vorwiegend zur Geltung kommen¹⁾. Eine anscheinende Berechtigung hat zunächst allerdings die Annahme von Antiaggressinen als besonderer Stoffe neben den gewöhnlichen Immunkörpern bei den septizämischen Infektionen (Milzbrand, Hühnercholera, Schweineseuche), weil man hier im Reagensglas keine deutlichen bakteriziden oder bakteriotropen Wirkungen des Immunserums hat feststellen können (S. 1052), indessen bekommt man doch ein anderes Bild, wenn man die Vorgänge, die im Tierkörper unter dem Einfluß des Immunserums sich entwickeln, genauer untersucht. Schon die Angaben in der Literatur lassen darauf schließen, daß die gesteigerte Freßtätigkeit der Phagozyten und vielleicht auch die abtötenden Leistungen der Säfte für die Erfolge des Serums verantwortlich gemacht werden müssen. Das hat auch eine von Zeh²⁾ in meinem Laboratorium angestellte Untersuchung bestätigt. Beim Milzbrandserum wird freilich die Entscheidung dadurch erschwert, daß das Immunserum bei den kleinen Versuchstieren überhaupt nur wenig leistet. Wir haben also hier wieder einmal einen Fall, in dem der Reagensglasversuch — wegen mangelhafter Bindung der Immunkörper an die Bakterien außerhalb des Körpers? — versagt, das kann uns aber in der Deutung der Erscheinungen im lebenden Körper, die im wesentlichen mit den bei anderen Infektionen beobachteten übereinstimmen, nicht irre machen. Nebenbei bemerkt haben sich Sauerbeck und andere Forscher dazu verleiten lassen, bei diesen Infektionen nicht antiinfektiöse, sondern antitoxische Wirkungen im Immunserum anzunehmen.

1) Vgl. die S. 1024 ff. angeführte Literatur über tierische Aggressine, die Kritik von Sauerbeck, ferner die in meinem Laboratorium gemachte Arbeit von Pane und Lotti (Annali d'igiene sperim. 1907) über die peritoneale Infektion.

2) Über Wirkungsweise des Milzbrandserums usw. Berner mediz. Dissert. Bonn 1909.

Abgesehen davon, daß auch hierfür Reagensglasversuche nicht den mindesten Anhaltspunkt geben, sprechen die Beobachtungen im infizierten Gewebe selbst, d. h. das Ausbleiben oder die Beschränkung des Wachstums im immunisierten Tier, klar dagegen. Wenn wir sonach von Antiaggressinen im Sinne Bails nichts wissen wollen, so ist damit natürlich nicht gesagt, daß nicht vielleicht die Zukunft uns noch die Kenntnis von antiinfektiösen Immunkörpern, die durch einen anderen Mechanismus wirken, als die Lysine und Tropine (z. B. Antileukine oder dgl.) bescheren könnte.

So nötig es nach alledem ist, lytische und tropische neben antitoxischen Wirkungen als Ursache der Schutzkraft der Immunsera zu unterscheiden, so wenig ist damit zunächst noch die Frage entschieden, ob die Lysine, Tropine und Antitoxine, die in einem und demselben Serum vorkommen, und ebenso die ihre Bildung anregenden „lysino-genen“, „tropinogenen“, „antitoxinogenen“ Impfstoffe, die in dem Leibe eines und desselben Bakteriums bzw. Bakterienextrakts vorhanden sind, wirklich immer verschiedene Stoffe sind. Soviel ist gewiß, daß wir bisher keine sicheren Mittel haben, sie voneinander getrennt darzustellen. Wir können höchstens die antitoxinogene (toxische) Wirkung mancher Impfstoffe z. B. durch Erhitzung vernichten, und vielleicht gelingt es auch durch diese oder jene Behandlungsmethode der Impfstoffe, deren tropinogene oder lysinogene Eigenschaft zu unterdrücken, wie das hin und wieder bei den agglutinogenen oder lysinogenen Funktionen der Impfstoffe (§ 335) geglückt sein soll. Das würde sich aber noch vereinigen lassen mit der Vorstellung, daß die genannten Impfstoffe ein einziges Molekül bildeten, das zwar aus Seitenketten von verschiedener Widerstandsfähigkeit und ungleicher Funktion zusammengesetzt wäre, aber durch Vermittlung derselben bindenden Gruppe sich mit den einzelnen Antikörpern vereinigte und durch die gleichen Bindegruppen die Antikörper liefernden Zellen zur Sekretion reizte. Damit würde auch nicht die Tatsache in Widerspruch stehen, die die meisten Forscher zu einer Trennung der Antitoxine, Lysine und Tropine¹⁾, Agglutinine²⁾ und anderer Antikörper (§ 334) bewogen hat, daß nämlich die Immunkörper, die mit einem und demselben Bakterium hergestellt werden, im Verlauf der Immunisierung nicht bloß eine quantitativ, sondern auch qualitativ verschiedene Wirksam-

1) Über die Verschiedenheit von Lysinen und Tropinen vgl. B ä c k e r (Zeitschr. f. Hyg. 56), N e u f e l d und H ü n e (Arb. K. Gesundheitsamt 24); N e u f e l d und B i c k e l (ebenda 27); N e u f e l d (in K o l l e - W a s s e r m a n n s Handb. Erg.-Bd. 2. 329, 1908).

2) Über die Verschiedenheit von Lysinen und Agglutininen vgl. z. B. C a s t e l l a n i (Zeitschr. f. Hyg. 38); W a s s e r m a n n (ebenda 42); F r i e d b e r g e r in K o l l e - W a s s e r m a n n 4. 554). S. auch § 335.

keit, bald mit lytischer, bald mit tropischer, antitoxischer oder agglutinierender Kraft entfalten und ebenso bei den einzelnen Tieren und in den einzelnen Organen derselben verschieden sein können. Denn auch was die Natur der Antikörper angeht, könnte man ähnliche Vorstellungen wie die eben ausgesprochenen verteidigen, indem man annähme, daß die Antikörper liefernden Zellen je nach Zeit, Tier und Organ in etwas ungleicher Weise auf denselben Reiz antworten. Von diesem Standpunkt aus müßten wir somit dem Impfstoff- wie dem Immunkörpermolekül eine veränderliche Zusammensetzung zuschreiben¹⁾. Der einfacheren Darstellung wegen bleiben wir hier aber bei der gewöhnlichen Annahme, nach der die lysinogenen, tropinogenen und die antitoxinogenen Impfstoffe ebenso wie die entsprechenden Immunkörper besondere Stoffe mit besonderen bindenden Gruppen sind, stehen.

Wir kennen bisher nur eine Tatsache, die dieser Ansicht geradezu zu widerstreiten scheint. Nach unseren Beobachtungen²⁾ wird nämlich das Antitoxin, das das sogenannte Kaninchengift der Ruhrbazillen zu neutralisieren vermag, durch Berührung mit Ruhrbazillen diesen, zugleich mit allen übrigen Antikörpern, entzogen, ohne daß die damit beladenen Bazillen dadurch ungiftig würden, ja die Erscheinung bleibt dieselbe, wenn die Bazillen durch Kochen für Kaninchen ungiftig geworden sind. Hieraus folgt entweder, daß das Ruhrantitoxin in den Bazillenleibern Bindegruppen vorfindet, die nichts mit dem Toxin selbst zu tun haben, oder aber, daß es mit anderen Antikörpern des Ruhrserums in fester Verbindung steht.

Wir haben hier schon mehrfach von der bindenden Gruppe der Impfstoffe gesprochen, durch deren Vermittlung sie die Bildung der Immunkörper in der tierischen Zelle anregen sollte. Das entspricht der Ehrlichschen Seitenkettentheorie, über deren Berechtigung wir uns öfter, zuletzt bei Gelegenheit der Aggressine (§ 327), ausgelassen haben. Dort haben wir auch die Ansicht verfochten, daß die Impfstoffe im wesentlichen mit den freien oder seßhaften Angriffsstoffen und Bakterienrezeptoren zusammenfallen, ebenso wie die Antitoxin bindenden Impfstoffe mit den Toxinen (§ 279). Eine einfache Schlußfolgerung daraus ist, daß die Lysinogene und Tropinogene sich mit den Lysinen und Tropinen verketten und dadurch nicht nur ihre Aggressivität (S. 1046), sondern auch ihr Immunisierungsvermögen verlieren müssen (oder können). In der Tat ist letzteres wenigstens für die Lysinogene der Cholera von Pfeiffer und Friedberger³⁾ bewiesen worden. Häufig ist auch der Reichtum an immunkörperbindenden Gruppen entschei-

1) Vgl. das S. 1111 Gesagte.

2) Vgl. Selter, Zeitschr. f. Immunitätsforschung 5. 479, 1910.

3) Berl. klin. Woch. 1902. 25; vgl. auch Agglutinogene.

dend für das Immunisierungsvermögen, so daß virulente Bakterien, die damit besser ausgestattet sind, sich mehr zur Immunisierung eignen als abgeschwächte. Daß in dieser Beziehung aber Ausnahmen vorkommen und wie diese sich vielleicht erklären, haben wir schon im § 327 besprochen. Wenn es dadurch wahrscheinlich wird, daß sich die Impfstoffe eines und desselben Keimes durch die Menge, in der sie gebildet werden, sowie durch die Verwandtschaft, die sie zu den Immunkörper bildenden Zellen und den Immunkörpern selbst zeigen, unterscheiden können, so haben andere Erfahrungen (S. 1057), auf die wir bei den Agglutinogenen zurückkommen werden, gelehrt, daß sie nicht eine einzige Bindengruppe, sondern eine Anzahl von solchen besitzen, die bald nebeneinander in demselben Tiere, bald in verschiedenen Tieren zur Geltung kommen, daß wir also nicht bloß mit einzelnen, für jede Art spezifischen lysinogenen und tropinogenen Seitenketten, sondern mit einem verwickelten „Rezeptorenapparat“ bei den Kleinwesen selbst wie bei den Immunkörper bildenden Zellen der höheren Organismen zu rechnen haben, mit einer Vielheit von Rezeptoren, die nicht immer völlig spezifisch, sondern zum Teil mehreren Mikrobenarten gemeinsam sind.

§ 334. **Andere Impfstoffe (Antigene).** Die Verwicklung wird dadurch noch viel größer, daß uns das Studium der Eigenschaften des Serums immunisierter Tiere im Laufe der Zeit bekanntlich noch mit einer Reihe anderer spezifischer Immun- oder Antikörper bekannt gemacht hat, denen wahrscheinlich wieder besondere Impfstoffe oder „Antigene“, oder, wenn wir im Sinne der Ehrlich'schen Theorie sprechen, neue Bakterien- und Zellrezeptoren entsprechen. Es sind das außer den schon genannten „Verklebungskörpern“ oder Agglutininen (G r u b e r und D u r h a m , R. P f e i f f e r) und Agglutinogenen, die „Niederschlagskörper“ oder Präzipitine (R. K r a u s). und Präzipitinogene, die komplementbindenden Körper oder Reagine (B o r d e t - G e n g o u s c h e Ambozeptoren, Eiweißambozeptoren) und Reaginogene, die Überempfindlichkeit erzeugenden Immunkörper oder Anaphylaxine (anaphylaktische Reaktionskörper, Sensibilisine) und Anaphylaxogene. Äußerlich betrachtet unterscheiden sich diese Immunkörper von den bisher betrachteten „Schutzkörpern“, abgesehen von ihren Wirkungen im einzelnen, dadurch, daß sie keine augenscheinlich für den Tierkörper nützlichen Leistungen entfalten, sondern entweder für den Verlauf der Infektion bedeutungslos zu sein scheinen, oder aber, wie die Anaphylaxine, den Tieren sogar schädlich werden. Dieser Umstand, wie die Tatsache, daß alle diese Arten von spezifischen „Immunkörpern“ auch durch die Behandlung der Tiere mit zahllosen anderen im Tier-

körper nicht vermehrungsfähigen Zellen (Blutkörpern, Samenfäden usw.) bzw. Zellstoffen (Serum, Milch, Eiweiß usw.) erzeugt werden können, hat manche Forscher dazu geführt, die ursprünglich allgemein angenommene teleologische Betrachtungsweise der Immunität fallen zu lassen. Uns scheint kein genügender Grund dafür vorzuliegen. Handelt es sich doch in allen Fällen um Gegenwirkungen, die geeignet sind, in den tierischen Körper hineingelangte organische Fremdkörper oder Fremdstoffe von eigentümlicher organischer Natur durch Lösung oder Niederschlagen¹⁾ aus den Säften auszuschalten, für den normalen Stoffwechsel unschädlich zu machen. Daß gelegentlich, namentlich durch Übertreibung der Reaktionen, der Zweck nicht erreicht, ja durch die Gegenwirkung selbst Schaden gestiftet wird, sehen wir sich bei allen sonst durchaus zweckmäßigen Einrichtungen des Organismus z. B. auch bei der Entzündung und beim Fieber wiederholen. Näher können wir hier auf die Verhältnisse nicht eingehen, weil sie sich auf Erscheinungen im Tierkörper selbst beziehen, also in der Infektions- und Immunitätslehre zu behandeln sind.

So wenig diese letztgenannten „Immunitätsreaktionen“²⁾ für das Leben der Mikroben im Tierkörper von Bedeutung zu sein scheinen, so außerordentlich groß ist die Bedeutung, die sie für die spezifische Kennzeichnung derselben, für die Diagnose der Mikroben und mikrobischen Infektionen, gewonnen haben.

Indem wir dazu übergehen, die Eigenschaften der hier in Betracht kommenden neuen Antigene im einzelnen zu betrachten, erwähnen wir nur noch, daß auch hier die Auffassungen der Ehrlichschen Seitenkettentheorie über den Bau derselben sich zwar im großen und ganzen bewährt haben, eine genaue Kenntnis ihrer chemischen Natur aber trotzdem noch nicht gewonnen worden ist (vgl. § 68). Wir wissen darüber ebensowenig auszusagen, wie über die Natur der übrigen Antigene, unter denen sie den Aggressinen bzw. Lysino- und Tropinogenen sowie Endotoxinen durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Hitze usw. näher stehen als den (meisten) Immuntoxinen oder En-

1) Vgl. auch die ältere Theorie von Gamaleia (§ 6) und die neuere von Vaughan, Nicolle, Friedberger u. a. (§ 344). Die Bezeichnung der organischen Fremdstoffe als fremde „Eiweißkörper“ erscheint uns nicht berechtigt, da die Antigene höchstens Seitenketten von solchen sind (s. im Text).

2) So genannt im weitesten Sinne des Wortes, im Gegensatz zu den eigentlichen Schutzreaktionen der § 331 u. 333.

zymen. Da auch diese Antigene und die entsprechenden Immunkörper bisher noch niemals rein dargestellt oder voneinander getrennt worden sind, können wir auch nicht die Frage, wie sie sich zueinander verhalten, mit Sicherheit entscheiden, müssen vielmehr auf das früher (S. 1082) bezüglich der übrigen Impfstoffe und Schutzkörper Gesagte verweisen. Es hat zwar, wie wir gleich sehen werden, nicht an Versuchen gefehlt, die einzelnen Arten der Antigene, z. B. die Agglutinine mit den Präzipitinen, diese mit den Reaginen und Anaphylaxinen, die Reagine mit den Ambozeptoren (Lysinen) zusammenzuwerfen, und wir selbst sind einer noch weitergehenden Zusammenfassung der Antigene und Antikörper nicht abgeneigt (a. a. O.), aber so verlockend diese Vereinfachungen auch sind, so sehr empfiehlt es sich vorläufig, die Trennung noch aufrecht zu erhalten. Jedenfalls gewinnt auch die Darstellung dadurch an Klarheit.

§ 335. Agglutinogene. Immunisierende Fähigkeit. Die meisten Erfahrungen liegen vor über die Antigene der Agglutinine, die man wie die Angriffsstoffe (S. 1030) als seßhafte oder freie Agglutinogene bezeichnen kann, je nachdem sie in den Mikroben festsitzen oder aus ihnen in Lösung gegangen sind. Die Möglichkeit, mit gelösten Bakterienstoffen Agglutinine zu erzeugen, ist seit Widal und Sicard, Levy und Bruns, Nicolle¹⁾, Neißer und Shiga²⁾, Kraus und Joachim³⁾ u. a. durch zahllose Versuche mit Filtraten und Extrakten erwiesen worden. Wenn man hierfür wie für die Gewinnung von Lysinen und Tropinen meist ganze Kulturen oder Aufschwemmungen von Leibern benutzt, so geschieht das, abgesehen von der größeren Einfachheit des Verfahrens, deshalb, weil die Immunkörper dann reichlicher gebildet zu werden pflegen.

Wahrscheinlich liegt das aber nur daran, daß die Auflösung der Bakterien im Tierkörper die Antigene am vollständigsten in Freiheit setzt⁴⁾. Aus derselben Ursache erklärt sich auch, daß Filtrate junger Bouillon-

1) Annal. Pasteur 1898; vgl. sonstige Literatur in der sehr vollständigen Bearbeitung der Agglutination von Palt auf (Kolle-Wassermanns Handb. 4. 645—783, 1904 und bei Volk in Kraus-Levaditis Handb. 2. 623—689, 1909.

2) Deutsch. med. Woch. 1903.

3) Zentr. Bakt. 36. 668, 1904.

4) Wenn nach Scheller (Zentr. Bakt. 36. 712) u. a. auf 60° erhitze Bakterien etwas höhere Agglutinationswerte ergeben, als lebende oder chloroformierte, so geschieht das vielleicht aus einem ähnlichen Grunde; Deutsch (Annal. Past. 1899) und Gaethgens (Zentr. Bakt. 48. 240, 1908) haben übrigens durch Immunisierungsversuche mit Blutserum bewiesen, daß die Agglutinogene noch bis zu 4 Tagen nach der Impfung von Tieren mit Typhusbazillen im Blutserum kreisen.

kulturen viel schwächer wirken als die alter, und daß diejenigen künstlichen Methoden, die die Bakterienleiber am vollständigsten aufschließen, die größte Menge von Agglutinogenen ergeben¹⁾. Da dasselbe aber auch für die übrigen Antigene, Aggressine und Endotoxine gilt, werden allermeist durch die gleiche Behandlung auch die sämtlichen übrigen Antikörper erzeugt. Ob es überhaupt möglich ist, wie manche Forscher meinen, die Agglutinogene frei von anderen Antigenen zu gewinnen, ist, wenn man von der Beseitigung der empfindlichen Immuntoxine durch Erhitzen oder chemische Mittel, wie z. B. das neuerdings zur Bakterienauflösung und Antigengewinnung empfohlene Antiformin²⁾ absieht, einigermaßen fraglich. Die Mitteilungen darüber widersprechen sich sehr. Einerseits wird behauptet, daß die Agglutinogene widerstandsfähiger seien als die Lysinogene (Brieger, Schütze und Mayer³⁾, De-falle⁴⁾, andererseits das Gegenteil (Friedberger und Moreschi⁵⁾, Friedberger⁶⁾). Friedberger und Moreschi selbst berichten über Erfahrungen, die sich schwer miteinander vereinigen lassen. So soll Chloroformbehandlung die Agglutinogene der Cholera-, nicht die der Typhusbazillen vernichten, die mehrtägige Autolyse der chloroformierten Bazillen aber auch den ersteren die agglutinogene Kraft zurückgeben. Im allgemeinen darf man wohl sagen, daß das Verhalten der Agglutinogene gegen äußere Eingriffe wie Hitze, Lösungs- und Fällungsmittel ein ähnliches ist, wie das der Aggressine bzw. Lysinogene einerseits und das der später zu besprechenden Antigene andererseits. Temperaturen bis 100° scheinen z. B. auch die agglutininbildende Kraft der Typhus-, Cholera-, Ruhrbazillen usw. nur unbedeutend, solche über 100° — in feuchtem Zustande, bei 150° in trockenem Zustande — erheblich zu schädigen⁷⁾. Daraus folgt freilich noch nicht die Identität aller dieser Antigene und Antikörper (S. 1082 u. 1086).

1) S. die Darstellungsmethoden § 333.

2) 2% Lösung bis zu einer Stunde einwirkend soll sämtliche Gifte (auch die der Ruhrbazillen) zerstören, nicht die Agglutinogene. Uhlenhuth und Xylander (Berl. klin. Woch. 1908. 28), Altmann und Schultz (Zeitschr. f. Immunität 3, 1909), Tsuzuki (ebenda 4). Selbst für die Tuberkelbazillen scheint ähnliches zu gelten (Moussu und Goupil (Compt. rend. ac. 6. VII. 1908).

3) Deutsch. med. Woch. 1902. 477; 1903. 309 (Aussalzungsverfahren) vgl. Kraus und Joachim (Zentr. Bakt. 37. 87) über das gleichzeitige Vorhandensein von Agglutinogenen und Präzipitinogenen in dem Brieger-Mayerschen Präparat (s. u. § 342).

4) Annal. Pasteur 1902.

5) Zentr. Bakt. 39.

6) Ebenda 40.

7) Ausnahmen von der Regel s. u. bei de Rossi. Über die qualitativen Veränderungen der durch erhitze Bakterien erzeugten Agglutinine s. u. bei Joos. Über den Verlust der Agglutininbarkeit der Bakterien durch Hitze und Säuren § 341. Die agglutininzeugende Fähigkeit der Bakterien wird auch durch Säurebehandlung nicht vernichtet (Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. 42. 271, Kirstein ebenda 46, 236).

Leider fehlen genaue Vergleiche über das entsprechende Verhalten der in Filtraten und Auszügen gelösten Agglutinogene gegen Erhitzung, Säuren u. dgl. Nach Nicolle (a. a. O.) würden Filtrate durch Erhitzen auf 115° zum größten Teil, aber doch nicht ganz ihrer Immunisierungsfähigkeit beraubt. Nach Carega¹⁾ behielte das durch Ausziehen mit verdünnter Kalilauge aus jungen Bouillonkulturen hergestellte „Nukleoalbumin“ dieselbe auch nach dem Kochen, während es seine Giftigkeit verlöre. Das bei der Behandlung ungelöst zurückbleibende „Nuklein“ soll überhaupt kein Agglutinin erzeugen (vgl. S. 945). Ob sie in tierischen Flüssigkeiten gelöst, wie die tierischen Aggressine (S. 1028) schon durch Temperaturen von 60° angegriffen werden, wäre noch festzustellen. Durch Alkohol läßt sich nach Winterberg²⁾ die immunisierende Substanz der Filtrate, ohne zerstört zu werden, niederschlagen, längere Berührung mit Alkohol vernichtet sie aber. Über das ungleiche Verhalten der agglutininbindenden und präzipitablen Stoffe werden wir weiter unten zu berichten haben.

Von vornherein läßt sich annehmen, daß auch der natürliche Zustand, in dem sich die Bakterien befinden, das Vorkommen der Agglutinogene beeinflußt. Weniger kommt wohl da in Betracht der Nährboden, auf dem sie gewachsen sind³⁾, als die ererbte oder durch Abänderung erworbene Stammeseigenart.

Man hat schon früh die Beobachtung gemacht, daß die Fähigkeit, Agglutinin zu bilden, nicht nur bei verschiedenen Arten, sondern bei verschiedenen Stämmen derselben Art, bzw. denselben Stämmen unter verschiedenen Bedingungen recht ungleich ist. Bekannt ist die Schwierigkeit, mit manchen Colibakterien, Kapselbakterien (*Bac. pneumoniae* usw.⁴⁾), Diphtherie und Pseudodiphtherie, Milzbrand, Hefe⁵⁾, Agglutinine zu erhalten. Indessen hängt ein großer Teil nur davon ab, daß nicht alle Tiere und nicht alle Verfahren gleich gut zur Immunisierung geeignet sind. So gelang es späteren Forschern, z. B. bei Pferden durch Benutzung erst von abgetöteten, später von lebenden Bazillen gegen Diphtherie und Pseudodiphtherie spezifische agglutinierende Seren zu gewinnen⁶⁾, während das gewöhnliche antitoxische Diphtherieserum in dieser Beziehung unwirksam ist.

Man hatte zunächst das mangelhafte Bildungsvermögen für Agglutinine mit dem Fehlen der Beweglichkeit in Verbindung gebracht. Das ist natürlich schon unmöglich geworden, seitdem man für viel unbewegliche Bakterien (Kokken und Bazillen) die stärksten Agglutinine erzeugt hat, immerhin scheint bei einer und derselben

1) Zentr. Bakt. 34.

2) Zeitschr. f. Hyg. 32, 1899.

3) Vgl. Gläßner, Zeitschr. f. experim. Pathol. 1. 640, 1905.

4) v. Eisler und Porges, Zentr. Bakt. 42, 1906 Lit.

5) vgl. Schütze, Zeitschr. f. Hyg. 44, 1903.

6) Schwoner, Wien. klin. Woch. 1902. 48.

Art das Vorhandensein von Geißeln oder vielleicht besser gesagt die Beschaffenheit der äußeren Leibesschicht, des Ektoplasmas, in einem gewissen Zusammenhang mit dem Agglutininbildungsvermögen und der Agglutinierbarkeit (§ 341) zu stehen.

Unter anderen Beispielen dafür gibt Defalle¹⁾ das folgende: Der *Bac. mycoides* entwickelt auf Agar täglich neu übertragen schöne Geißeln und im Tier ein kräftiges Agglutinin, das am stärksten auf ihn selbst wirkt. Wenn man ihn aber auf Agar zur Sporulation gelangen läßt, ehe er übergeimpft wird, so bildet er kümmerliche Geißeln und Agglutinine, die außerdem fast nur auf die bewegliche Abart einwirken²⁾. Nicolle und Trénel³⁾ beobachteten auch bei Typhusbazillen und typhusähnlichen Bakterien, die, bei 42 bzw. 38° gezüchtet, unbeweglich geworden waren, Abnahme ihres immunisierenden Vermögens und ihrer Agglutinierbarkeit, während de Rossi⁴⁾ bei einer Coliart das Immunisierungsvermögen der unbeweglichen (bei 35° gezüchteten) Kultur ziemlich unverändert, aber die Agglutinierbarkeit stark vermindert fand. Letzterer Forscher untersuchte ferner bei einem Heubazillus die Bedeutung der Geißeln für die Agglutininbildung, indem er die Bewegungsorgane durch Schütteln in Kochsalzlösung und Zentrifugierung von den Leibern trennte und nun mit beiden Bestandteilen sowie mit ganzen Bazillen Tiere immunisierte. Die Geißeln und Leiber erwiesen sich gleich wirksam und erzeugten zusammen ebensoviel Agglutinin, wie die unversehrten Bazillen allein. Da die Geißeln durch KieselgurfILTER hindurchgehen⁵⁾ und bei unbeweglichen Bakterien die durch Ausschüttelung gewonnene Flüssigkeit kaum agglutinogen ist, erklärt de Rossi die Geißeln für den Sitz der immunisierenden Substanz in der Flüssigkeit. Nebenbei besaß die geißelhaltige Flüssigkeit sogar ein etwas stärkeres Bindungsvermögen für Agglutinine, als die Bazillenleiber. Gegenüber der Erhitzung⁶⁾ verhält sich die agglutininbildende und -bindende Kraft der Geißeln und Leiber ganz ähnlich, d. h. sie wird durch Erwärmung auf 62° stark herabgesetzt. Auch die Agglutinierbarkeit steht in einem gewissen Zusammenhange mit dem Zustand der Geißeln, denn beide bleiben bei Temperaturen bis 65° unverändert, und über 65° hinaus, wo die Geißeln zugrunde gehen, wird die Agglutinierbarkeit stark geschädigt. Abtrennung der Geißeln von den Körpern der Bazillen (durch Schütteln) bewirkt nur eine Verlangsamung, sonst keine Beeinträchtigung der Agglutininwirkung. Inwieweit es sich in allen diesen Punkten um Ausnahmeverhältnisse handelt, wäre noch festzustellen.

1) Annal. Pasteur 1892.

2) Kirstein a. a. O. 239 sah keine Unterschiede in dem Immunisierungsvermögen von *Prodigious* bazillen, die durch Züchtung bei 37° ihre Farbe verloren hatten, sondern nur einen Verlust der Agglutinierbarkeit.

3) Annal. Pasteur 1902.

4) Zentr. Bakt. 37. 113.

5) Ebenda 433.

6) Ebenda 40. 565.

Ähnliche Rassenunterschiede sind nun auch, von der Beweglichkeit abgesehen, vielfach beobachtet worden bei Cholera- und Typhusbazillen. Pfeiffer und Friedberger glaubten zunächst, es bestände ein Parallelismus zwischen Virulenzgrad und Bildungs- bzw. Bindungsvermögen für Lysine und Agglutinine. Wir haben aber schon S. 1048 gesehen, daß sich diese Behauptung für die Lysine nicht aufrecht erhalten läßt. Ebensowenig ist das nach den dort namhaft gemachten Forschern für die Agglutinine der Fall. Bald erhält man mit weniger virulenten Bakterien stärkere Agglutinine als mit virulenten, bald spärliche oder selbst gar keine.

§ 336. **Zusammengesetzte Natur der Agglutinogene.** Daß die agglutinin erzeugende Substanz eines bestimmten Bakteriums kein einfacher, nur quantitativ unveränderlicher Stoff ist, haben, abgesehen von den Bindungsversuchen, auf die wir gleich kommen werden, schon die Immunisierungsversuche selbst gelehrt. Es zeigte sich nämlich erstens, daß die Agglutinine, die mit dem gleichen Präparat von verschiedenen Tierindividuen oder -arten gewonnen waren, das zugehörige Bakterium und andere Stämme derselben Art zwar stets am stärksten, d. h. in den größten Verdünnungen, und alle übrigen Bakterien gar nicht oder schwächer — also wie man zu sagen pflegt. spezifisch beeinflussten, aber die letzteren keineswegs immer in dem gleichen Verhältnis, sondern bald dieses, bald jenes Bakterium mehr agglutinierten. Mußte man hieraus auf einen zusammengesetzten Bau der Agglutinine mit sogen. „Haupt“- und „Nebenagglutininen“, d. h. wenn man sich auf den Standpunkt der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie stellt, auf eine große Mannigfaltigkeit der tierischen Rezeptoren und zugleich auf eine entsprechend verwickelte Zusammensetzung der Agglutinogene aus zahlreichen verschiedenen immunisierenden bzw. bindenden Gruppen schließen¹⁾, so folgt aus den ebenfalls in gewissen Grenzen schwankenden Agglutinationswerten, die man mit verschiedenen Stämmen einer und derselben Bakterienart erhält, daß auch die Zusammensetzung dieser Agglutinogene veränderlich ist, also bald diese, bald jene immunisierende Gruppe mehr oder weniger entwickelt ist²⁾.

1) Durham, Journ. of experim. med. 1901; Wassermann. Zeitschr. f. Hyg. 42 und 286, 1903. Vgl. Anm. 2.

2) Beispiele finden sich in allen größeren Arbeiten über die Agglutination, z. B. bei Kolle und Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg. 44 (Vibrionen), Kruse, Rittershaus, Kemp und Metz ebenda 57 (Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen).

J o o s ¹⁾ hat sogar den Nachweis geführt, daß man durch einen einfachen künstlichen Eingriff dergleichen Änderungen jeden Augenblick bewirken kann. Immunisiert man nämlich Tiere nebeneinander mit lebenden oder auf 60° erhitzten²⁾ Typhusbazillen („ α - und β -Agglutinogenen), so erhält man Agglutinine (α - und β -Agglutinine), die beide Zustandsformen der Bazillen ungleich agglutinieren und ungleiche Widerstandskraft gegenüber der Erhitzung bieten. Was den modifizierenden Einfluß der Temperatur anlangt, so sind die Beobachtungen J o o s' durch S c h e l l e r sowie K r a u s und J o a c h i m (a. a. O.) im wesentlichen bestätigt worden, die Verhältnisse sind aber anscheinend viel verwickelter, als J o o s es angenommen hatte. So ergaben sich S c h e l l e r neue Verschiedenheiten im Immunisierungsvermögen bei Erhitzung der Bazillen auf 100° und K r a u s und J o a c h i m auch solche zwischen unerhitzten Bouillonfiltraten und Kochsalzextrakten (s. u. Präzipitogene § 442).

§ 337. **Bindende Fähigkeit der Agglutinogene.** Die zweite Eigenschaft der Agglutinogene neben ihrer immunisierenden besteht nach der Seitenkettentheorie (§ 327) darin, daß sie die Agglutinine des Serums binden. In der Tat ist dieses von B o r d e t ³⁾ zuerst nachgewiesene Bindungsvermögen allseitig zuerkannt worden den Bakterienleibern selbst, also den seßhaften Agglutinogenen, und C a s t e l l a n i ⁴⁾ hat daraufhin in meinem Laboratorium die später nach ihm benannte A b s ä t t i g u n g s m e t h o d e zur Prüfung der Agglutinine ausarbeiten können. Durch sie wird gleichzeitig bewiesen, daß das Bindungsvermögen ein spezifisches ist, insofern die sämtlichen Haupt- und Nebenagglutinine (S. 1090) nur durch Bakterien derselben Art, mit denen das Serum hergestellt ist, abgesättigt werden, die Nebenagglutinine aber auch entfernt werden können durch heterologe Absättigung d. h. mit den fremden Bakterien, auf die sie wirken. Ausnahmen (s. u.) bestätigen nur die Regel. Länger hat es gedauert, bis auch das Bindungsvermögen der freien (gelösten) Agglutinogene anerkannt worden ist. Zum Teil hat das allerdings wohl nur daran gelegen, daß man von der falschen Voraussetzung ausging, die Agglutinine müßten die Agglutinogene gleichzeitig binden und fällen (§ 341), zum anderen Teil hat man die quantitativen Verhältnisse, die bei der Absättigung der Agglutinine auch durch Bakterienleiber eine große Rolle spielen

1) Zentr. Bakt. 33.

2) Nach E i s e n b e r g (Zentr. Bakt. 41. 823) verhalten sich ebenso Bazillen, deren Agglutinierbarkeit durch Züchtung bei 42° vermindert ist.

3) Annal. Pasteur 1899. 247.

4) Zeitschr. f. Hyg. 40, 1902; vgl. auch unsere in Anm. 2 S. 1090 erwähnte Dysenteriearbeit.

(s. u.), nicht berücksichtigt, z. B. zu große Mengen von Agglutininen verwandt hat.

So setzten Kraus und v. Pirquet¹⁾, Neißer und Shiga²⁾, Wassermann³⁾, Asakawa⁴⁾, Eisenberg⁵⁾, de Rossi⁶⁾, Bürgers und Hösch⁷⁾ den vergeblichen Versuchen Radziewskys⁸⁾, Beljaeffs⁹⁾, Bails¹⁰⁾, Picks¹¹⁾ solche entgegen, in denen der Zusatz spezifischer Bouillonfiltrate oder -extrakte die Agglutinationskraft von Typhus-, Ruhr-, Pyocyaneus-Immunserum abschwächte oder ganz aufhob. Wassermann fügte dazu den Nachweis, daß das mit Immunserum versetzte Pyocyaneusfiltrat ein weit geringeres Agglutinationsvermögen besaß als das unvermischte, und Bürgers und Hösch zeigten, daß entgegen der Ansicht von Bail und Kikuchi¹²⁾ die Bazillenextrakte nicht nur die Agglutination hemmten, sondern auch die Agglutinine fest banden, denn der nachträglich in der Mischung angestellte Bindungsversuch mit Bazillenleibern ließ Agglutinine nur zurückgewinnen, wenn sie im Überschuß zugesetzt worden waren (vgl. S. 1046).

Denkbar wäre es ja freilich, daß in anderen Fällen — es fehlt noch an einer genügenden Bearbeitung der Verhältnisse — die freien Agglutinogene eine schwächere Verwandtschaft zu den Agglutininen hätten, als die in den Leibern steckenden. Selbst die letzteren geben ja einen Teil der gebundenen Agglutinine bei entsprechender Behandlung wieder ab.

Hahn und Trommsdorf¹³⁾ machten zwar nicht durch Aufschwemmen mit Kochsalzlösung bei 37° aus agglutinierten Bakterien Agglutinine frei, aber wohl geringere Mengen durch Aufschwemmen mit $\frac{1}{100}$ Normallauge oder -säure. Ballner und Sagasser¹⁴⁾, Landsteiner und Jagic¹⁵⁾ fanden aber die Dissoziationsfähigkeit der an rote Blutkörper und Bakterien gebundenen Agglutinine sogar schon gegenüber Kochsalzlösung in gewissem, freilich manchmal recht geringem Grade ausgesprochen. Wenn man die Temperatur auf 60° steigert, läßt sie sich

1) Zentr. Bakt. 32.

2) Deutsch. med. Woch. 1903. 4.

3) a. a. O.

4) Zeitschr. f. Hyg. 45. 1905.

5) Zentr. Bakt. 41. 752, 1906.

6) Ebenda 37. 111; s. o.

7) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 2, 1909.

8) Zeitschr. f. Hyg. 34, 1900.

9) Zentr. Bakt. 33.

10) Prag. med. Woch. 1901. 17.

11) Hofmeisters Beitr. 1, 1901.

12) Arch. f. Hyg. 53, 1905.

13) Münch. med. Woch. 1900.

14) Arch. f. Hyg. 51.

15) Münch. med. Woch. 1902—1904.

nach P. Th. Müller¹⁾ leichter nachweisen, und zwar besonders leicht bei den Agglutininen „geringerer Avidität“, die einem schon einmal mit Bakterien behandelten agglutinierenden Serum durch eine zweite Absorption entzogen werden. Ferner sah Joos²⁾ normale Typhusbazillen, die mit stark agglutinierten zusammen aufgeschwemmt waren, der Agglutininwirkung unterliegen, die Agglutinine also von den schon beladenen auf die nichtbeladenen Bakterien „überspringen“³⁾. Die Möglichkeit einer Trennung (die „Reversibilität“) der Agglutinogen-Agglutininbindung wird auch durch die Erfahrungen, die Eisenberg⁴⁾ beim Studium der Agglutinationshemmung durch sogenannte Proagglutinoide gesammelt hat. Der Enderfolg hängt in erheblichem Maße von den Massenverhältnissen der Agglutinine und Proagglutinoide und der Zeitdauer der Verbindung ab. Je länger die letztere ist, desto schwieriger ist ihre Sprengung. Endlich wäre nicht unmöglich, daß eine solche im Tierkörper stattfinden könnte. Neißer und Lubowski⁵⁾ gelang es in der Tat, wie schon anderen Forschern vor ihnen, mit stark agglutinierten Bakterien noch Agglutinine zu erzeugen, wenn auch nicht regelmäßig und in geringeren Mengen als bei Verwendung normaler Bazillen. Man kann aber selbst hier noch einwenden, daß vielleicht nicht genügend auf die vollständige Absättigung der Agglutinogene mit Agglutinin geachtet worden ist. Vgl. die entsprechenden Beziehungen zwischen Toxinen und Antitoxinen § 278.

§ 338. **Bindungsgesetz der Agglutinogene.** Damit kommen wir auf die Bindungsgesetze der Agglutinogene. Sie sind zuerst durch die Arbeit von Eisenberg und Volk⁶⁾ festgestellt und später allenthalben bestätigt worden.

Die Verfasser gingen aus von einer „Agglutinineinheit“, d. h. derjenigen Serummenge, die gerade hinreichte, um 1 ccm einer Aufschwemmung von einer Agarkultur Typhusbazillen in 30 ccm Kochsalzlösung (Einheit der agglutinablen Substanz) zu unvollkommener Agglutination zu bringen, d. h. darin einen deutlich und scharf begrenzten Niederschlag mit leicht getrübler Flüssigkeit darüber zu erzeugen. Um die Menge der Agglutinine zu prüfen, die von der genannten Bakterieneinheit aus einem verschieden konzentrierten Serum entzogen werden, wurden je 30 ccm der Bakterienaufschwemmung in den wechselnden Serumverdünnungen hergestellt, die Röhrchen 2 Stunden bei 37° und bis zu 24 Stunden bei Zimmertemperatur (bis zur Klärung) stehen gelassen und in der geklärten Flüssigkeit die noch vorhandene Agglutininmenge ermittelt. Das Verhältnis der gebundenen zur dargebotenen Agglutininmenge wurde als Absorptionskoeffizient bezeichnet. Beispielsweise ergab sich für die Einheit der agglutininbildenden Substanz:

1) Arch. f. Hyg. 51.

2) Zeitschr. f. Hyg. 40.

3) Vgl. Eisenberg und Volk ebenda 40. 166 und 654, 1906.

4) Zentr. Bakt. 41. 464 u. 654, 1906.

5) Ebenda 30, 1901.

6) Zeitschr. f. Hyg. 40.

Serum- verdünnung ¹⁾	Dargebotene Agglutininmenge in Einheiten	Gebundene Agglutininmenge in Einheiten	Absorptions- koeffizient
1 : 10 000	2	2	20 : 20
1 : 1000	20	20	20 : 20
1 : 500	40	40	20 : 20
1 : 300	67	67	20 : 20
1 : 100	200	180	18 : 20
1 : 50	400	340	17 : 20
1 : 10	2 000	1 500	15 : 20
1 : 2	10 000	6 500	13 : 20
1 : 1	20 000	11 000	11 : 20

Aus dieser und vielen anderen in ähnlicher Richtung verlaufenden, wenn auch in jedem Serum etwas verschiedenen Reihen ließ sich die Regel ableiten, daß bei gleichbleibender Bakterienmenge mit höherer Konzentration der Agglutinine die gebundene Menge immer größer, das Verhältnis der gebundenen zur gebotenen Menge immer kleiner wird. Regelmäßig waren die Bakterien imstande, vielmehr Agglutinin zu binden, als zu ihrer Agglutination genügte. Nur in einigen Bindungsversuchen mit normalem Serum wurde trotz steigender Serumkonzentration nur je eine Agglutinationseinheit gebunden. Das ist theoretisch wichtig, weil es dafür spricht, daß auch die Bindung des Agglutinogens mit dem Agglutinin unter Umständen in gleichbleibendem Verhältnis erfolgt, wie die Bindung der Toxine an die Antitoxine. Im allgemeinen ist das aber nicht der Fall, sondern es hängt die gebundene Agglutininmenge von dem Zahlenverhältnis ab, in dem die bindende Substanz zu dem gebotenen Agglutinin steht.

Daraus ist schon zu folgern, daß eine Verdoppelung oder Verzehnfachung der Bakterienmenge im Bindungsversuch nicht immer in demselben Verhältnis die Menge der gebundenen Agglutinine vermehrt. In sehr verdünntem Serum wird das allerdings oft eintreten, nicht aber in stärkerer Konzentration. Bringt man z. B. im obigen Beispiel zehn Einheiten Bakterien statt einer in reines Serum, so würde das Verhältnis der Agglutinogene zu den Agglutininen 1 : 2000, nicht mehr 1 : 20 000 entsprechen, es wird also $\frac{15}{20}$ statt $\frac{11}{20}$ der vorhandenen Agglutinine gebunden werden, also eine völlige Absättigung des reinen Serums nicht zu erzielen sein. Der Versuch bestätigt das. Größeren Erfolg verspricht das wiederholte Eintragen von Bakterien in konzentriertes Serum, wenn man durch Ausschleudern für Entfernung der zuerst zugesetzten Bakterien

1) 1 : 1 bedeutet Vollserum.

sorgt. Dann ist in obigem Beispiel schon nach der ersten Absättigung das Verhältnis heruntergegangen auf 1 : 9000, nach der zweiten auf etwa 1 : 6000, nach der dritten auf weniger als 2000 (Koeffizient 15 : 20), d. h. durch wiederholte kleine Absättigungen haben wir hier mindestens das gleiche Ergebnis, wie bei einmaliger Eintragung einer zehnfachen Menge. Auch hier bestätigt die Erfahrung die Erwartung. Entsprechend ist das Ergebnis bei Absorption durch geringere Bakterienmengen. Leider stellten Eisenberg und Volk nicht fest, ob eine vollständige Absättigung der Agglutinogene durch Agglutinine überhaupt möglich, ob also ein bestimmtes Antigen nur ein bestimmtes Höchstmaß von Agglutinineinheiten aufnehmen kann. Das hätte man entscheiden können durch Heruntergehen mit der Bakterienmenge oder durch wiederholte Absättigung derselben Bakterien mit Serum. Versuche in letzterer Richtung machten allerdings Eisenberg und Volk und kamen dabei zu dem Ergebnis, daß Bakterien, die schon mit Agglutininen stark beladen sind, in frischem Serum etwas weniger Agglutinin aufnehmen, als unberührte Bakterien. Bis zur Grenze sind sie auch hier nicht gegangen. Ein Nebebefund war, daß stark beladene Bakterien aus schwachen Lösungen nichts mehr aufnehmen, sondern einen kleinen Teil ihrer Agglutinine sogar abgaben (s. o. S. 1093).

Eine praktische Schlußfolgerung aus diesen Bindungsangaben ist die, daß man zur Absättigung von Agglutininen (s. o. Castellani's Versuch) entweder das Serum stark, z. B. auf 1 : 100, verdünnt oder wiederholt absättigt und dabei möglichst große Mengen nimmt¹⁾.

Die Zeit, die zur Absättigung nötig ist, ist meistens kurz, nach Eisenberg und Volk genügen z. B. wenige Minuten, um die Bindung zu bewerkstelligen. Nach eigenen und fremden Erfahrungen verlängert man aber die Absättigung besser auf 1½—1 Stunde, unter Umständen auf 24 Stunden, auch ist die Temperatur nicht so unwichtig, wie es nach den Angaben von Eisenberg und Volk scheint. Bruttemperatur ist vorzuziehen.

§ 339. Natur der Agglutinogenbindung. Es fragt sich, wie man sich theoretisch das aus obigen Untersuchungen sich ergebende Bindungsgesetz, das deswegen eine besondere Wichtigkeit hat, weil es in ähnlicher Form auch für andere Antigene — mit Ausnahme der Toxine — zu gelten scheint, zurechtlegen soll. Nachdem Bordet²⁾ zuerst die Bindung hämolytischer Antikörper, weil sie in veränderlichen Verhältnissen erfolgt, mit der Absorption des Jods durch Stärke oder von Farbe durch färbbare Körper, also mit einem meist als physikalisch aufgefaßten Vorgang verglichen hatte, wogte der Streit darüber hin und her, ob die Bindung

1) Vgl. unsere Dysenteriearbeit (s. o. Anm. 2, S. 1090).

2) Annal. Pasteur 1900. 225; 1903. 165.

chemischer oder physikalischer Natur sei. Wir entscheiden uns wegen der Spezifität der Bindung für die erstere.

Wie B o r d e t selbst hervorhebt, ist der Streit insofern müßig, als wir über das Zustandekommen der sogenannten physikalischen Absorption nichts Sicheres wissen. Allgemeines Einverständnis herrscht auch darüber, daß sich die Antikörper bzw. Agglutinine zum großen Teil so fest an die Bakterien binden, daß man an eine chemische Bindung denken muß. Selbst A r r h e n i u s ¹⁾, der wie E i s e n b e r g ²⁾ die Aufnahme der Agglutinine in die Bakterien als einen „Verteilungsvorgang“ zwischen zwei Lösungsmitteln auffaßt, welcher vom G u l d b e r g - W a a g e s c h e n Gesetz des chemischen Gleichgewichts beherrscht sei und sich in eine einfache mathematische Formel³⁾ fassen lasse, läßt eine n a c h t r ä g l i c h e chemische Bindung zu. Von vornherein ist auch natürlich keine Einwendung dagegen zu erheben, daß man die Erfahrungen der „Kolloidchemie“ auf die Beziehungen der Antigene zu den Immunkörpern, die beide zu den Kolloiden gehören, anwendet⁴⁾ und die Niederschlagsbildungen der Kolloide mit den Agglutininen und Präzipitinen der Bakterien und Bakterienstoffe vergleicht (s. u. § 341). Aber gerade die Bindung der letzteren an die Agglutinine und übrigen Immunkörper hat trotz einiger Ähnlichkeiten in den quantitativen Verhältnissen etwas Besonderes an sich, nämlich die Arteigentümlichkeit, die „S p e z i f i z i t ä t“. Wir erklären sie uns am einfachsten mit bestimmten c h e m i s c h e n V e r w a n d t s c h a f t e n oder wie E h r l i c h es macht, durch das Vorhandensein von haptophoren (bindenden) Gruppen. Man wird dabei nach den früheren Feststellungen über die Trennbarkeit der Agglutininverbindungen (S. 1092) mit J o o s ⁵⁾ vermuten dürfen, daß die Verwandtschaft der zahlreichen Bindegruppen der Bakterien (S. 1094) zu den Agglutininen teils stärker, teils schwächer ist, gleichgültig ob man sich den Behauptungen dieses Forschers über die Mitbeteiligung anderer Bestandteile (Salze) an der Verbindung anschließt oder nicht (§ 340). Der Zukunft überlassen bleiben muß es, ob es gelingen wird, für die Agglutinogene ähnliche „Spektren“ zu entwerfen, wie es E h r l i c h für die giftigen Antigene getan hat (§ 264). Dazu wäre vor allem ein g e n a u e r e s S t u d i u m der Bindekraft der gelösten Agglutinogene (s. o. S. 1091), und um sie studieren zu können, ihre vollständige Gewinnung aus den Bakterienleibern nötig. In den Bouillonfiltraten, selbst aus sehr alten Kulturen, ebenso wie in den Leiberextrakten gewinnt man immer nur einen Teil der Agglutinogene in freiem Zustande⁶⁾. Die alleinige Prüfung auf Agglutininierbarkeit kann allerdings Täuschungen verursachen, weil diese, z. B. durch Erhitzung, verloren gehen, die Bindekraft erhalten bleiben kann (§ 341). Man wird daher, um die

1) Zeitschr. physikal. Chem. 46, 1904.

2) Zentr. Bakt. 34.

3) Einwendungen gegen diese Formel s. bei N e i ß e r, Zentr. Bakt. 36, 1904.

4) Vgl. S. 892 und die Lit. daselbst.

5) Zeitschr. f. Hyg. 36 und 40.

6) Vgl. E i s e n b e r g und V o l k im Gegensatz zu M a l v o z und N i c o l l e. S. die ähnlichen Verhältnisse bei den Angriffstoffen S. 1029.

Agglutinogene in Freiheit zu setzen, nur die Methoden anwenden dürfen, bei denen die Bakterienleiber vollständig und ohne Benutzung von Chemikalien oder höherer Temperatur aufgelöst werden. Nebenbei bemerkt würde an derartigen Lösungen vielleicht auch die Frage entschieden werden können, ob die homologen und heterologen Nebenagglutinine (S. 1090/1) Seitenketten an demselben Kern sind wie die Hauptagglutinine oder besondere Stoffe.

§ 340. Veränderungen des Bindungsvermögens der Agglutinogene. Das Bindungsvermögen der Agglutinogene scheint im allgemeinen gegen künstliche Eingriffe eher noch widerstandsfähiger zu sein als das immunisierende (vgl. aber S. 1058).

So gelang es Scheller (S. 1086), die nach Joos Vorgang hergestellten α - und β -Agglutinine sowohl durch unerhitzte als durch erhitzte Typhusbazillen zu absorbieren. Gekochte Bazillen erwiesen sich sogar mit stärkerem Bindungsvermögen begabt als die anderen. Letzteres kann freilich nicht regelmäßig sein, denn nach Eisenberg und Volk schädigt die Erhitzung, wenn sie über 58° hinausgeht, das Bindungsvermögen der Typhusbazillen (im feuchten Zustand) in ziemlich gleicher Weise, ob sie nun $65,100$ oder 144° erreicht¹⁾. Aus konzentriertem Serum wird dann von ihnen kaum die Hälfte der Agglutininmenge entzogen, als wenn sie unerhitzt sind. Bei hohen Serumverdünnungen treten die Unterschiede zurück. Behandlung mit verdünnter Salzsäure vernichtet ebensowenig das Agglutininbildungs- wie das Bindungsvermögen. Ähnliche Versuche mit gelösten Agglutinogenen fehlen, abgesehen von den schon früher erwähnten de Rossis²⁾, als Ersatz können auch nicht die mit Präzipitinen gemachten Erfahrungen dienen, da sie im wesentlichen nur die Fällbarkeit oder Löslichkeit in Alkohol u. dgl. betreffen.

Weit größere Unterschiede im Bindungsvermögen ergeben sich beim Vergleich verschiedener Stämme einer und derselben Bakterienart, mögen sie natürliche oder künstliche Abarten sein. Das hat sich z. B. bei Typhus-, Paratyphus-, Cholera-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen gezeigt. Die Versuche, feste Beziehungen zwischen der immunisierenden und bindenden Fähigkeit oder auch der Virulenz der einzelnen Stämme aufzustellen, sind, wie wir schon früher sahen (S. 1058, 1090), zum großen Teil gescheitert. Wenn man überhaupt von einer Regel sprechen darf, so hat sie jedenfalls viele Ausnahmen.

So wird man sich auch nicht wundern können, wenn gelegentlich³⁾ das früher von uns aufgestellte Gesetz (S. 1091), nach dem im Castel-

1) Bei den von de Rossi (s. o. S. 1089) studierten Heubazillen wird das Agglutininbindungs- und Bindungsvermögen schon bei 62° zum größten Teil zerstört (Zentr. Bakt. 40. 702, 1906).

2) Vgl. Anm. 1.

3) Posselt und Sagasser, Wien. klin. Woch. 1903; Zupnik und Posner, Prag. med. Woch. 1903; Hetsch und Lentz, Festschrift für Koch, 1904.

lanischen Versuch die sämtlichen Agglutinine durch den Stamm, der sie erzeugt hat, abgesättigt werden, durchbrochen wird und z. B. die (heterologen) Nebenagglutinine dabei nicht verschwinden. Man wird unter diesen Umständen hier wie im Falle der Toxine (§ 279) und Aggressine (§ 327) den immunkörperbindenden und immunisierenden Bestandteil des Agglutinogens nicht einfach identifizieren dürfen, sondern in der früher angegebenen Weise zu Hilfsvorstellungen greifen müssen.

§ 341. **Agglutinierbarkeit.** Mit dem Agglutininbildungs- und -bindungsvermögen sind aber noch nicht alle Eigenschaften der Agglutinogene erschöpft, denn aus ihnen folgt noch nicht ohne weiteres die Fähigkeit der Bakterien, durch die Agglutinine zu „verkleben“, zu „verklumpen“, „auszuflocken“, ihre **A g g l u t i n i e r b a r k e i t**. Die letztere Eigenschaft ist vielmehr in weitem Maße unabhängig von den ersteren.

Nachgewiesen wurde das zuerst durch **Eisenberg** und **Volk**, die beobachteten, daß (feuchte) Typhusbazillen nach halbstündigem Erhitzen auf 58° normale Bindungs- und Agglutinationsverhältnisse, aber nach Anwendung höherer Temperaturen, insbesondere von 100°, nur noch Spuren, nach solchen von 144° überhaupt keine Agglutinierbarkeit mehr zeigen, während ihr Bindungsvermögen durch Temperaturen über 58° gleichmäßig und lange nicht in demselben Grade geschädigt wird. Bei Cholera-bazillen wurde freilich selbst durch Erhitzung auf 170° weder Bindungswert noch Agglutinierbarkeit erheblich herabgesetzt¹⁾, dagegen büßten sie die letztere zum größten Teil — die Typhusbazillen vollständig — ein, wenn sie in 0,4—10 prozentiger Salzsäure eine Stunde bei 37° gehalten und durch nachher vorgenommene Neutralisierung von einer weitergehenden Säurewirkung geschützt wurden²⁾.

Eisenberg und **Friedberger** unterscheiden daher am Agglutinogen eine „bindende“ und „fällbare“ Gruppe („agglutinierbare Substanz“), und schreiben der letzteren eine geringere, aber je

1) **Porges** (Zeitschr. f. exper. Path. 1, 1905) fand dagegen, daß Typhus- und Cholera-bazillen zwischen 65° und 90° ihre Agglutinierbarkeit verlieren, sie aber bei 100—144° wiedergewinnen. Ein hemmender Stoff (Nuklein?), dessen Einwirkung durch konzentrierte Kochsalzlösung behoben werden kann, soll daran schuld sein; vgl. übrigens die ähnlichen Verhältnisse bei der Verdaulichkeit § 10.

2) **Wassermann** (Zeitschr. f. Hyg. 42) bestätigt diesen Befund. Nach **Weil** liegt das Optimum der Agglutinierbarkeit für Typhusbazillen bei 52—55°, bei 65° wird sie aufgehoben. Außer Cholera-bazillen vertragen auch Staphylokokken selbst das Erhitzen auf 100° (Zentr. Bakt. 36 u. 37). Vgl. auch **de Rossi's** Heubazillen S. 1089. Bei diesen besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen Agglutinierbarkeit und dem Zustand der Geißeln. Daß die Geißeln selbst bei der Agglutination unverändert bleiben, zeigten **de Rossi** (Zentr. Bakt. 36. 689) und **Hinterberger** (ebenda 45).

nach der Bakterienart wechselnde Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse zu¹⁾).

Angeregt wurden die beiden Forscher zu diesen Untersuchungen durch Angaben von Wid al und Sicard, van de Velde, Malvoz und Nicolle über das Ausbleiben der Agglutination bei Bakterien, die durch Hitze oder Aufenthalt in älteren Kulturen verändert waren. Letzteres konnten Eisenberg und Volk zwar nicht bestätigen, es kann aber doch wohl in anderen Fällen zu recht bestehen.

Kälte, Formalin, Sublimat, Chloroform, Thymol u. a. m. sind nach den oben genannten Forschern ohne Einfluß auf die agglutinierbare Substanz. Jedoch hat Selter in meinem Laboratorium gefunden, daß Formalinzusatz zu Typhusbazillenkulturen — in Form des Fickerschen „Typhusdiagnostikums“ — doch deren Agglutinierbarkeit in gewissem Grade beeinträchtigt. In konzentrierten Gaben und bei längerer Einwirkung werden wohl alle Antiseptika die agglutinierbare Substanz nicht unberührt lassen. Daß der Alkohol sogar die immunisierende Fähigkeit der Agglutinogene unter diesen Umständen zerstört, haben wir schon früher mitgeteilt (S. 1088). Nach Nicolle soll allerdings Alkohol und Äther die „substance agglutinée“ nicht schädigen, aber er arbeitete in der Weise, daß er trockene Bakterien mit diesem Stoffe 2 Tage lang auszog und den eingedunsteten Extrakt in Bouillon aufgelöst mit agglutinierendem Serum versetzte und auf Niederschlagsbildung prüfte. Die letztere kann übrigens nur dann auf das Vorhandensein agglutinierbarer Substanz bezogen werden, wenn man diese der „präzipitierbaren“ Substanz gleichsetzt. Vieles spricht allerdings dafür (s. u. §. 342). Auch nach Pick, Kraus und v. Pirquet enthält die präzipitierbare Substanz alkohollösliche Bestandteile.

Vieldeutig erscheint zunächst die von Bordet²⁾ zuerst festgestellte und dann von Nolf, Joos, Friedberger³⁾, Eisenberg und Volk, Porges⁴⁾ studierte Einwirkung der Salze und anderer kristallisierbarer Körper (wie Zucker, Leuzin) auf die Agglutination. Völliger Mangel derartiger Stoffe in der Aufschwemmung verhindert sie, Zusatz selbst kleiner Mengen ruft sie wieder hervor, höhere Konzentrationen hemmen oder verhindern sie ebenfalls, ohne daß aber eine nachträgliche Verdünnung die Hemmung beseitigte. Man hat sich diese Wirkungen verschieden erklärt. Nach Joos und Porges ist eine gewisse Menge Salz insofern nötig zur Agglutination,

1) Agglutinogene ohne agglutinierbare Gruppe würde man am besten Agglutinogenoid nennen, wenn das Wort nicht zu fürchterlich klänge. Agglutinoid, das Kraus vorschlägt, ist schon vergeben an die Abart des Agglutinins, die eine bindende, aber keine agglutinierende Gruppe besitzt. Eine weitere Verwicklung besteht darin, daß die bindenden Bestandteile der Agglutinogene, wie wir oben gesehen, nicht völlig zusammenfallen mit den agglutinin erzeugenden. Wir haben hier wieder in gewissem Sinne ähnliche Verhältnisse wie bei den Agressinen bzw. Lysinogenen (§ 327).

2) Annal. Pasteur 1899.

3) Zentr. Bakt. 30, 1901.

4) Ebenda 40, 1903.

als es in die Verbindung des Agglutinogens mit dem Agglutinin, die an sich löslich ist, eintritt. Friedberger bestreitet das. Jedenfalls ist nach Joos und Porges um so mehr Salz zum Eintritt der Agglutination nötig, je mehr agglutinierbare Substanz und je weniger Agglutinin zur Verfügung steht. Nach Asakawa soll die Unlöslichkeit des an Globulin gebundenen Agglutinins in salzfreiem Wasser dessen Wirksamkeit bedingen. Das stimmt aber schon nicht mit den sonst gemachten Erfahrungen über die Fällbarkeit von Agglutininen.

Die Wirkungen der hohen Salzkonzentration sind auch deshalb schwer zu erklären, weil sie je nach Art der Salze ungleich sind. Zum Teil wird man nach Eisenberg und Volk eine Beeinflussung der fällenden Gruppe des Agglutinins (Agglutinoidbildung), zum Teil eine solche des Agglutinogens (Agglutinogenoidbildung) annehmen müssen.

Die Verhältnisse werden dadurch noch verwickelter, daß auch die fertig agglutinierten Bakterien (am besten Agglutinate, nicht Präzipitate zu nennen) nachträglich nicht nur durch Erhitzen auf 70—100°, verdünnte Säuren, Alkalien, Formalin, sondern auch durch konzentrierte Salze voneinander gelöst, „desagglutiniert“ werden können.

Die Ähnlichkeit des Verhaltens des Agglutinats mit anderen kolloidalen Niederschlägen liegt auf der Hand und ist eine wichtige Stütze für die Identität der Agglutination mit der Präzipitation (§ 342). Die Spezifität der miteinander reagierenden Stoffe unterscheidet aber die Agglutination und Präzipitation von den gewöhnlichen kolloidalen Niederschlagsbildungen. Daß auch Bakterien durch nichtspezifische Mittel agglutiniert werden können, ändert daran natürlich nichts. Genannt werden als solche Chrysoidin (Blachstein, Engels¹⁾), Saffranin und Vesuvium, Formalin (50%), Alkohol (50%), Sublimat (1‰), Salizylsäure (Malvoz²⁾), Bossaert³⁾, Kraus und Seng⁴⁾, Hinterberger⁵⁾), Chinin, Antipyrin, Atropin, Morphin, Chloralhydrat, Borsäure, Phenol, Gelatine, Glycerin, Organsäfte (Sabrazès und Brengnès⁶⁾), Gummilösung (10%), Stärkekleister (2%), (Trumpp⁷⁾), Galle und Taurocholsäure (Köhler⁸⁾), verdünnte Säuren, Salze von Schwermetallen (M. Neißer und Friedemann⁹⁾). Diese Agglutination wurde mehrfach, weil sie nicht alle Bakterienarten gleichmäßig betraf, für spezifisch gehalten, die genauere Nachprüfung zeigte aber in allen Fällen, daß davon nicht die Rede sein kann. Wahrscheinlich ist oft an der Ausflockung der Bakterien nur der in der Lösung durch die Chemikalien erzeugte Niederschlag schuld (Kraus und Seng), wie ja schon Nicolle in Lösungen, die präzipitable Bakterien-substanz enthielten, durch präzipitierende Immunsere nicht nur die zugehörigen Bakterien, sondern auch beliebige andere und

1) Zentr. Bakt. 21, 1897.

2) Annal. Pasteur 1897.

3) Ebenda 1898.

4) Wien. klin. Woch. 1899, 1.

5) Zentr. Bakt. 35, 1901.

6) Soc. biol. 25. XI. 1899.

7) Arch. f. Hyg. 33, 1898.

8) Münch. med. Woch. 1903. 32.

9) Ebenda 1904. 19.

nicht belebte feinste Körperchen (Tusche) zur Agglutination brachte. Die agglutinierende Wirkung der Gelatine soll nach Weil¹⁾ allerdings nach einem ähnlichen Mechanismus (unter Bindung usw.) erfolgen wie die eigentliche Agglutination.

Interessant ist die von Neißer und Friedemann festgestellte Tatsache, daß mit Agglutinin beladene, gut ausgewaschene und daher in destilliertem Wasser gleichmäßig aufschwemmbar Bakterien durch den Zusatz von Schwermetallsalzen viel leichter agglutiniert werden als normale Bakterien. Da die Agglutininbakterien auch durch geringe Mengen von Salzen der Leichtmetalle ausgeflockt werden (s. o. S. 1099), während das bei normalen Bakterien höchstens in starker Konzentration der Fall ist, scheint es sich um ein allgemeines Gesetz zu handeln: die Agglutinine erhöhen die normale Ausflockungsfähigkeit durch Salze. Der Vergleich mit anderen durch Salze agglutinierbaren Suspensionen zeigt weiter, daß die normalen Bakterien sich im großen und ganzen wie Eiweiß-, die Agglutininbakterien wie Mastix-Arsentrisulfid und andere harmlose „inerte“ Körperchen verhalten und daß die letzteren durch Mischung mit eiweißartigen Stoffen (Gelatine, Blutegel-extrakt, Serum, Bakterienextrakt) die Eigenschaften der ersteren annehmen. Es macht also den Eindruck, als ob bei den Agglutininbakterien derartige „Hemmungskörper“ die in den normalen Bakterien wirken, ausgeschaltet seien. Auch durch Säuren und Alkohol sollen normale Bakterien so verändert werden, daß sie durch die Salze der Leichtmetalle ausgeflockt werden. Doch ist diese Eigenschaft nicht beständig. Porges²⁾ bestätigte diese Befunde im wesentlichen³⁾ und erhielt solche „spontan“ agglutinierenden Bakterien z. B. beim Bac. pneumoniae durch Auskochen in saurer Lösung, beim Cholerabazillus oft schon durch längeres Kochen in neutraler Lösung. Er glaubt geradezu, daß die Agglutinierbarkeit der Bakterien von der Menge der in ihnen erzeugten Proteine abhängig sei.

Man findet sogenannte freiwillige Agglutination (Pseudoagglutination) von Bakterien, d. h. eine solche, die in Kochsalzlösungen oder normalen Serumverdünnungen, also bei Gegenwart von Salz, nicht aber in destilliertem Wasser beobachtet wird, nicht selten als zufälligen Befund bei einzelnen Stämmen aller möglichen Bakterien, kann sie aber auch manchmal auf weniger eingreifende Weise künstlich hervorrufen, z. B. durch Züchtung auf eiweißfreien Nährböden (Kirstein⁴⁾) oder in Immunserum (Hamburger, Laubheimer, Porges⁵⁾). Die freiwillig agglutinierenden Bakterien können — aber brauchen es nicht zu tun — dem Einfluß des Agglutinins nebenbei unterliegen, wie Bindungsversuche von Porges und Prantschoff⁶⁾

1) Zentr. Bakt. 36 und 37.

2) Zentr. Bakt. 40. 134.

3) Ein näheres Eingehen auf die Beziehungen der Agglutination zu kolloidalen Reaktionen liegt nicht in unserer Absicht. Man vgl. dazu Porges a. a. O. und die S. 892 angegebene Literatur.

4) Zeitschr. f. Hyg. 46, 1904.

5) a. a. O.

6) Zentr. Bakt. 41.

und eigene Erfahrungen beweisen. Die Agglutinationsprüfung ist natürlich bei ihnen erheblich erschwert. Nach P o r g e s und P r a n t s c h o f f gelingt es, die Pseudoagglutinierbarkeit solcher Kulturen dadurch vorübergehend auszuschalten, daß man sie kurze Zeit auf 80° erhitzt. Uns selbst ist das leider nicht geglückt. Einen anderen Nachteil hat die Methode auch deshalb, weil sie in manchen Fällen die Agglutinierbarkeit durch Agglutinine gleichzeitig aufhebt. Die großen Schwankungen, die bezüglich des Vorkommens der freiwilligen Agglutinierbarkeit beobachtet werden, machen es übrigens unwahrscheinlich, daß es sich hier um eine Verarmung an Eiweiß handelt. Wir selbst haben sie in einer Analyse an Ruhrbazillen nicht gefunden. Eher mag ein unbekannter in geringer Menge gebildeter Stoff an dieser Erscheinung beteiligt sein.

Die Agglutinierbarkeit durch Immunserum wird, wie man sieht, nicht bloß durch äußere Eingriffe beeinflusst, sondern ist auch eine Eigenschaft, die je nach der Herkunft der Bakterien und ihrer Stammes- bzw. Arteigentümlichkeit wechselt. Neben dem eben besprochenen freiwillig agglutinierbaren kommen nicht oder schwer agglutinierbare Stämme, z. B. bei Typhusbazillen vor. Manche frisch von Typhusfällen oder aus Wasser gezüchtete Kulturen zeigen diese Eigenschaft (Widal und Sicard, S a c - q u é p é e¹⁾, R e m y²⁾, Nicolle und Trénel³⁾, P. Th. Müller⁴⁾) Häufig gewinnen die Bazillen ihre normale Agglutinierbarkeit früher oder später wieder.

Nach B a i l⁵⁾ sind z. B. unmittelbar aus der Bauchhöhle von Meer-schweinchen entnommene „Exsudatbakterien“ kaum agglutinierbar, die erste Kulturgeneration aber schon wieder in gewöhnlicher Weise. Züchtung bei 42° vermindert nach Nicolle und Trénel⁶⁾ u. a. gleichzeitig die Beweglichkeit und die Agglutinierbarkeit der Typhusbazillen, ebenso Züchtung des Prodigiosus bei 37° nach Kirstein gleichzeitig Farb-bildungsvermögen und Agglutinierbarkeit. Nach Streit⁷⁾ sind die üppigen schleimbildenden Kulturen der Aërogenesgruppe durchschnittlich weniger agglutinabel als die dünner wachsenden. Allerdings zeigen auch die letzteren immer noch einen gewissen Widerstand gegen die Agglutination (S. 1088).

Als eine Angewöhnung der Bakterien an Agglutinine oder vielleicht besser als Immunisierung

1) Annal. Pasteur 1901.

2) Ebenda 1901.

3) Ebenda 1902.

4) Münch. med. Woch. 1903. 2.

5) Prag. med. Woch. 1901. 7 und 12.

6) a. a. O. bestätigt von Eisenberg und für Colibazillen von de Rossi, Zentr. Bakt. 37. 113; vgl. auch Defalle (bewegliche und weniger bewegliche Abart des Bac. mycoides S. 1089). Erfolglose Versuche in derselben Richtung machte Kirstein.

7) Zentr. Bakt. 40.

(§ 330) gegen dieselben ist die Verringerung der Agglutinierbarkeit zu betrachten, die Ransom und Katashima¹⁾, Bail²⁾, Walker³⁾, P. Th. Müller, Laubenheimer⁴⁾, Kirstein, Morello⁵⁾, Marshall und Knox⁶⁾ bei Züchtung von Cholera- und Typhus-, Pyocyaneus-, Pseudodysenteriebazillen in mit Zusatz von agglutinierendem Serum versehenen Nährböden beobachteten. Daß dieser Erfolg dabei nicht immer, sondern ausnahmsweise selbst Steigerung der Agglutinierbarkeit (Tarchetti⁷⁾), gelegentlich auch freiwillige Agglutinierbarkeit auftrat, sei nebenbei bemerkt.

Nicht immer sind leider die übrigen Eigenschaften der Bakterien, das Immunisierungs- und Bindungsvermögen bei diesen bezüglich der Agglutinierbarkeit in der einen oder anderen Richtung von der Norm abweichenden Bakterien geprüft worden. Schon die vorliegenden — meist früher erwähnten — Angaben zeigen aber, daß feste Beziehungen zwischen den drei Eigenschaften nicht vorhanden sind.

So fanden z. B. Pfeiffer und Friedberger (S. 1047) bei virulenten Cholera- und Typhusbazillen geringere Agglutinierbarkeit, stärkeres Agglutininbindungs- und Bindungsvermögen als bei abgeschwächten, Händel (S. 1048) bei stark abgeschwächten Cholera- und Typhusbazillen Erhaltung der Agglutinierbarkeit und der Bindekraft, aber Verlust der Immunisierungsfähigkeit, Eisenberg und Volk bzw. Wassermann bei manchen Typhusbazillen völligen Verlust der Agglutinierbarkeit und Erhaltung des Binde- bzw. Bindungsvermögens, Cole⁸⁾ umgekehrt bei Typhusbazillen gleichzeitig Steigerung der Agglutinierbarkeit und des Bindungsvermögens. Letzteres scheint häufiger vorzukommen als ersteres (vgl. Bail, Müller).

§ 342. Präzipitogene. Bald nach der Entdeckung der Agglutination oder Ausflockung der Bakterien erfolgte die der Präzipitation oder Fällung ihrer gelösten Produkte durch R. Kraus⁹⁾.

Zunächst zeigte sich, daß ältere Bouillonfiltrate von Typhus-, Cholera-, Pestbazillen durch Zusatz der zugehörigen spezifischen Immunseren, und zwar nur durch solchen etwa im Verhältnis von 5:1—0,1 cm, nach kürzerer oder längerer Zeit, manchmal erst in 24—48 Stunden getrübt wurden und Niederschläge absetzten. Nicht alle Bakterien und Immunseren

1) Deutsch. med. Woch. 1898. 293.

2) Arch. f. Hyg. 42, 1902.

3) Ref. Zentr. Bakt. 32.

4) Dissert. Gießen 1903.

5) Annali d'igiene 1904.

6) Journ. of medic. research. 15, 1906.

7) Bei Palt auf a. a. O. S. 756.

8) Zeitschr. f. Hyg. 46.

9) Wien. klin. Woch. 1897. 32; ebenda 1901, 29; Zeitschr. f. Heilk. 23, 1902; „Über spezifische Niederschläge“ in Kolle-Wassermanns Handb. 4. 592—644.

chemischer oder physikalischer Natur sei. Wir entscheiden uns wegen der Spezifität der Bindung für die erstere.

Wie Bordet selbst hervorhebt, ist der Streit insofern müßig, als wir über das Zustandekommen der sogenannten physikalischen Absorption nichts Sicheres wissen. Allgemeines Einverständnis herrscht auch darüber, daß sich die Antikörper bzw. Agglutinine zum großen Teil so fest an die Bakterien binden, daß man an eine chemische Bindung denken muß. Selbst Arrhenius¹⁾, der wie Eisenberg²⁾ die Aufnahme der Agglutinine in die Bakterien als einen „Verteilungsvorgang“ zwischen zwei Lösungsmitteln auffaßt, welcher vom Guldberg-Waageschen Gesetz des chemischen Gleichgewichts beherrscht sei und sich in eine einfache mathematische Formel³⁾ fassen lasse, läßt eine nachträgliche chemische Bindung zu. Von vornherein ist auch natürlich keine Einwendung dagegen zu erheben, daß man die Erfahrungen der „Kolloidchemie“ auf die Beziehungen der Antigene zu den Immunkörpern, die beide zu den Kolloiden gehören, anwendet⁴⁾ und die Niederschlagsbildungen der Kolloide mit den Agglutininen und Präzipitinen der Bakterien und Bakterienstoffe vergleicht (s. u. § 341). Aber gerade die Bindung der letzteren an die Agglutinine und übrigen Immunkörper hat trotz einiger Ähnlichkeiten in den quantitativen Verhältnissen etwas Besonderes an sich, nämlich die Arteigentümlichkeit, die „Spezifität“. Wir erklären sie uns am einfachsten mit bestimmten chemischen Verwandtschaften oder wie Ehrlich es macht, durch das Vorhandensein von haptophoren (bindenden) Gruppen. Man wird dabei nach den früheren Feststellungen über die Trennbarkeit der Agglutininverbindungen (S. 1092) mit Joos⁵⁾ vermuten dürfen, daß die Verwandtschaft der zahlreichen Bindegruppen der Bakterien (S. 1094) zu den Agglutininen teils stärker, teils schwächer ist, gleichgültig ob man sich den Behauptungen dieses Forschers über die Mitbeteiligung anderer Bestandteile (Salze) an der Verbindung anschließt oder nicht (§ 340). Der Zukunft überlassen bleiben muß es, ob es gelingen wird, für die Agglutinogene ähnliche „Spektren“ zu entwerfen, wie es Ehrlich für die giftigen Antigene getan hat (§ 264). Dazu wäre vor allem ein genaueres Studium der Bindekraft der gelösten Agglutinogene (s. o. S. 1091), und um sie studieren zu können, ihre vollständige Gewinnung aus den Bakterienleibern nötig. In den Bouillonfiltraten, selbst aus sehr alten Kulturen, ebenso wie in den Leiberextrakten gewinnt man immer nur einen Teil der Agglutinogene in freiem Zustande⁶⁾. Die alleinige Prüfung auf Agglutinierbarkeit kann allerdings Täuschungen verursachen, weil diese, z. B. durch Erhitzung, verloren gehen, die Bindekraft erhalten bleiben kann (§ 341). Man wird daher, um die

1) Zeitschr. physikal. Chem. 46, 1904.

2) Zentr. Bakt. 34.

3) Einwendungen gegen diese Formel s. bei Neisser, Zentr. Bakt. 36, 1904.

4) Vgl. S. 892 und die Lit. daselbst.

5) Zeitschr. f. Hyg. 36 und 40.

6) Vgl. Eisenberg und Volk im Gegensatz zu Malvoz und Nicolle. S. die ähnlichen Verhältnisse bei den Angriffstoffen S. 1029.

Agglutinogene in Freiheit zu setzen, nur die Methoden anwenden dürfen, bei denen die Bakterienleiber vollständig und ohne Benutzung von Chemikalien oder höherer Temperatur aufgelöst werden. Nebenbei bemerkt würde an derartigen Lösungen vielleicht auch die Frage entschieden werden können, ob die homologen und heterologen Nebenagglutinine (S. 1090/1) Seitenketten an demselben Kern sind wie die Hauptagglutinine oder besondere Stoffe.

§ 340. Veränderungen des Bindungsvermögens der Agglutinogene. Das Bindungsvermögen der Agglutinogene scheint im allgemeinen gegen künstliche Eingriffe eher noch widerstandsfähiger zu sein als das immunisierende (vgl. aber S. 1058).

So gelang es Scheller (S. 1086), die nach Joos Vorgang hergestellten α - und β -Agglutinine sowohl durch unerhitzte als durch erhitzte Typhusbazillen zu absorbieren. Gekochte Bazillen erwiesen sich sogar mit stärkerem Bindungsvermögen begabt als die anderen. Letzteres kann freilich nicht regelmäßig sein, denn nach Eisenberg und Volk schädigt die Erhitzung, wenn sie über 58° hinausgeht, das Bindungsvermögen der Typhusbazillen (im feuchten Zustand) in ziemlich gleicher Weise, ob sie nun $65,100$ oder 144° erreicht¹⁾. Aus konzentriertem Serum wird dann von ihnen kaum die Hälfte der Agglutininmenge entzogen, als wenn sie unerhitzt sind. Bei hohen Serumverdünnungen treten die Unterschiede zurück. Behandlung mit verdünnter Salzsäure vernichtet ebensowenig das Agglutininbildungs- wie das Bindungsvermögen. Ähnliche Versuche mit gelösten Agglutinogenen fehlen, abgesehen von den schon früher erwähnten de Rossis²⁾, als Ersatz können auch nicht die mit Präzipitinen gemachten Erfahrungen dienen, da sie im wesentlichen nur die Fällbarkeit oder Löslichkeit in Alkohol u. dgl. betreffen.

Weit größere Unterschiede im Bindungsvermögen ergeben sich beim Vergleich verschiedener Stämme einer und derselben Bakterienart, mögen sie natürliche oder künstliche Abarten sein. Das hat sich z. B. bei Typhus-, Paratyphus-, Cholera-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen gezeigt. Die Versuche, feste Beziehungen zwischen der immunisierenden und bindenden Fähigkeit oder auch der Virulenz der einzelnen Stämme aufzustellen, sind, wie wir schon früher sahen (S. 1058, 1090), zum großen Teil gescheitert. Wenn man überhaupt von einer Regel sprechen darf, so hat sie jedenfalls viele Ausnahmen.

So wird man sich auch nicht wundern können, wenn gelegentlich³⁾ das früher von uns aufgestellte Gesetz (S. 1091), nach dem im Castel-

1) Bei den von de Rossi (s. o. S. 1089) studierten Heubazillen wird das Agglutininbindungs- und Bindungsvermögen schon bei 62° zum größten Teil zerstört (Zentr. Bakt. 40. 702, 1906).

2) Vgl. Anm. 1.

3) Posselt und Sagasser, Wien. klin. Woch. 1903; Zupnik und Posner, Prag. med. Woch. 1903; Hetsch und Lentz, Festschrift für Koch, 1904.

lanischen Versuch die sämtlichen Agglutinine durch den Stamm, der sie erzeugt hat, abgesättigt werden, durchbrochen wird und z. B. die (heterologen) Nebenagglutinine dabei nicht verschwinden. Man wird unter diesen Umständen hier wie im Falle der Toxine (§ 279) und Aggressine (§ 327) den immunkörperbindenden und immunisierenden Bestandteil des Agglutinogens nicht einfach identifizieren dürfen, sondern in der früher angegebenen Weise zu Hilfsvorstellungen greifen müssen.

§ 341. Agglutinierbarkeit. Mit dem Agglutininbildungs- und -bindungsvermögen sind aber noch nicht alle Eigenschaften der Agglutinogene erschöpft, denn aus ihnen folgt noch nicht ohne weiteres die Fähigkeit der Bakterien, durch die Agglutinine zu „verkleben“, zu „verklumpen“, „auszuflocken“, ihre **A g g l u t i n i e r b a r k e i t**. Die letztere Eigenschaft ist vielmehr in weitem Maße unabhängig von den ersteren.

Nachgewiesen wurde das zuerst durch **E i s e n b e r g** und **V o l k**, die beobachteten, daß (feuchte) Typhusbazillen nach halbstündigem Erhitzen auf 58° normale Bindungs- und Agglutinationsverhältnisse, aber nach Anwendung höherer Temperaturen, insbesondere von 100°, nur noch Spuren, nach solchen von 144° überhaupt keine Agglutinierbarkeit mehr zeigen, während ihr Bindungsvermögen durch Temperaturen über 58° gleichmäßig und lange nicht in demselben Grade geschädigt wird. Bei Cholera-bazillen wurde freilich selbst durch Erhitzung auf 170° weder Bindungswert noch Agglutinierbarkeit erheblich herabgesetzt¹⁾, dagegen büßten sie die letztere zum größten Teil — die Typhusbazillen vollständig — ein, wenn sie in 0,4—10 prozentiger Salzsäure eine Stunde bei 37° gehalten und durch nachher vorgenommene Neutralisierung von einer weitergehenden Säurewirkung geschützt wurden²⁾.

E i s e n b e r g und **F r i e d b e r g e r** unterscheiden daher am Agglutinogen eine „bindende“ und „fällbare“ Gruppe („agglutinierbare Substanz“), und schreiben der letzteren eine geringere, aber je

1) **P o r g e s** (Zeitschr. f. exper. Path. 1, 1905) fand dagegen, daß Typhus- und Cholera-bazillen zwischen 65° und 90° ihre Agglutinierbarkeit verlieren, sie aber bei 100—144° wiedergewinnen. Ein hemmender Stoff (Nuklein?), dessen Einwirkung durch konzentrierte Kochsalzlösung behoben werden kann, soll daran schuld sein; vgl. übrigens die ähnlichen Verhältnisse bei der Verdaulichkeit § 10.

2) **W a s s e r m a n n** (Zeitschr. f. Hyg. 42) bestätigt diesen Befund. Nach **W e i l** liegt das Optimum der Agglutinierbarkeit für Typhusbazillen bei 52—55°, bei 65° wird sie aufgehoben. Außer Cholera-bazillen vertragen auch Staphylokokken selbst das Erhitzen auf 100° (Zentr. Bakt. 36 u. 37). Vgl. auch **d e R o s s i**s Heubazillen S. 1089. Bei diesen besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen Agglutinierbarkeit und dem Zustand der Geißeln. Daß die Geißeln selbst bei der Agglutination unverändert bleiben, zeigten **d e R o s s i** (Zentr. Bakt. 36. 689) und **H i n t e r b e r g e r** (ebenda 45).

nach der Bakterienart wechselnde Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse zu¹⁾).

Angeregt wurden die beiden Forscher zu diesen Untersuchungen durch Angaben von Widal und Sicard, van de Velde, Malvoz und Nicolle über das Ausbleiben der Agglutination bei Bakterien, die durch Hitze oder Aufenthalt in älteren Kulturen verändert waren. Letzteres konnten Eisenberg und Volk zwar nicht bestätigen, es kann aber doch wohl in anderen Fällen zu recht bestehen.

Kälte, Formalin, Sublimat, Chloroform, Thymol u. a. m. sind nach den oben genannten Forschern ohne Einfluß auf die agglutinierbare Substanz. Jedoch hat Selter in meinem Laboratorium gefunden, daß Formalinzusatz zu Typhusbazillenkulturen — in Form des Fickerschen „Typhusdiagnostikums“ — doch deren Agglutinierbarkeit in gewissem Grade beeinträchtigt. In konzentrierten Gaben und bei längerer Einwirkung werden wohl alle Antiseptika die agglutinierbare Substanz nicht unberührt lassen. Daß der Alkohol sogar die immunisierende Fähigkeit der Agglutinogene unter diesen Umständen zerstört, haben wir schon früher mitgeteilt (S. 1088). Nach Nicolle soll allerdings Alkohol und Äther die „substance agglutinée“ nicht schädigen, aber er arbeitete in der Weise, daß er trockene Bakterien mit diesem Stoffe 2 Tage lang auszog und den eingedunsteten Extrakt in Bouillon aufgelöst mit agglutinierendem Serum versetzte und auf Niederschlagsbildung prüfte. Die letztere kann übrigens nur dann auf das Vorhandensein agglutinierbarer Substanz bezogen werden, wenn man diese der „präzipitierbaren“ Substanz gleichsetzt. Vieles spricht allerdings dafür (s. u. §. 342). Auch nach Pick, Kraus und v. Pirquet enthält die präzipitierbare Substanz alkohollösliche Bestandteile.

Vieldeutig erscheint zunächst die von Bordet²⁾ zuerst festgestellte und dann von Nolf, Joos, Friedberger³⁾, Eisenberg und Volk, Porges⁴⁾ studierte Einwirkung der Salze und anderer kristallisierbarer Körper (wie Zucker, Leuzin) auf die Agglutination. Völliger Mangel derartiger Stoffe in der Aufschwemmung verhindert sie, Zusatz selbst kleiner Mengen ruft sie wieder hervor, höhere Konzentrationen hemmen oder verhindern sie ebenfalls, ohne daß aber eine nachträgliche Verdünnung die Hemmung beseitigte. Man hat sich diese Wirkungen verschieden erklärt. Nach Joos und Porges ist eine gewisse Menge Salz insofern nötig zur Agglutination,

1) Agglutinogene ohne agglutinierbare Gruppe würde man am besten Agglutinogenoid nennen, wenn das Wort nicht zu fürchterlich klänge. Agglutinoid, das Kraus vorschlägt, ist schon vergeben an die Abart des Agglutinins, die eine bindende, aber keine agglutinierende Gruppe besitzt. Eine weitere Verwicklung besteht darin, daß die bindenden Bestandteile der Agglutinogene, wie wir oben gesehen, nicht völlig zusammenfallen mit den agglutinin erzeugenden. Wir haben hier wieder in gewissem Sinne ähnliche Verhältnisse wie bei den Agressinen bzw. Lysinogenen (§ 327).

2) Annal. Pasteur 1899.

3) Zentr. Bakt. 30, 1901.

4) Ebenda 40, 1903.

folgende aber erst von B o r d e t und G e n g o u¹⁾ durch Anwendung einer bestimmten Methodik entdeckt worden.

Diese ist seitdem fast ausschließlich zum Nachweis der Reagine und Reaginogene genutzt worden und besteht darin, daß die Mischung der betreffenden Immunseren und Antigene mit komplementhaltigem, d. h. frischem Normalserum, z. B. von Meerschweinchen, in Berührung gebracht und dann mit gewaschenen roten Blutkörpern (z. B. vom Hammel) und einem dagegen gerichteten hämolytischen Ambozeptor (Serum von Kaninchen, die mit Hammelblutkörpern behandelt worden sind) versetzt wird. Die Reaginogen-Reaginverbindung entfernt das Komplement aus dem hämolytischen System (Komplement + Ambozeptor + Blutkörper) und verhindert oder hemmt dadurch die Hämolyse. Statt der von B o r d e t und G e n g o u ursprünglich benutzten Bakterienleiber empfehlen W a s s e r m a n n und B r u c k²⁾ Schüttellextrakte lebender Bakterien; L e u c h s und S c h ö n e³⁾ erhielten aber noch bessere Ergebnisse, wenn sie die Bakterien erst 6—24 Stunden auf 60° erhitzten und dann bei Zimmertemperatur 24—48 Stunden schüttelten. A l t m a n n⁴⁾ mit Antiforminauflösungen (§ 12).

C r e n d i r o p o u l o⁵⁾ zeigte, daß das Immunserum, wenn es mit toten oder lebendigen Cholerabazillen in Berührung gebracht worden ist, nicht nur in dem Teil, der sich an die Bazillenleiber gebunden hat und durch Zentrifugieren zu gewinnen ist, die Komplementablenkung vollzieht, sondern auch in dem darüber stehenden gelösten Anteil. Offenbar entzieht es den Bakterien einen Teil der mit ihm zusammen wirkenden Reaginogene. Die Bindung des Komplements erfordert eine gewisse Zeit.

Statt des gewöhnlich benutzten hämolytischen Systems kann man auch ein anderes, statt eines hämolytischen auch ein bakteriolytisches wählen (B o r d e t und G e n g o u, N e u f e l d und H ä n d e l s. u.). statt des Meerschweinchenserums das Normalserum eines anderen Tieres benutzen und die Bindung des Komplementes, statt wie gewöhnlich bei 37°, in der Kälte vornehmen (N e u f e l d und H ä n d e l), um festzustellen, welcher Art die Komplemente sind, die von der Antigen-Immunkörperverbindung verankert werden. Bisher sind aber solche Versuche nur in kleinem Umfange vorgenommen worden.

Läßt man bei dieser oder jener Anordnung das Immunserum fort, so erhält man keine Hemmung der Hämolyse, vorausgesetzt, daß man nicht zu große Mengen des Antigens nimmt, denn wie gesagt, binden größere Mengen von Bakterien bzw. Bakterienstoffen ebenfalls Komplement⁶⁾.

1) Annal. Pasteur 1901.

2) Med. Klinik 1905. 55.

3) Zeitschr. f. Hyg. 60, 1908 mit Literatur; vgl. auch A x a m i t, Zentr. Bakt. 42; W e i l und A x a m i t, Berl. klin. Woch. 1906. 53.

4) Zentr. Bakt. 54, 1910.

5) Annal. Pasteur 1909.

6) Auch von Immunserum gilt das häufig. Es sind daher immer Kontrollen mit abgestuften Mengen von Antigenen bzw. Immunserum anzusetzen. Diese dienen auch dazu, etwa bestehende hämolytische Wirkungen des Antigens selbst (s. Bakterienhämolysine § 312) festzustellen.

Je nach der Bakterienart, deren Immunserum und wahrscheinlich auch der Darstellungsart der Bakterienpräparate wechselt das Mengenverhältnis, in dem diese ohne und mit Serum (hämolytisches) Komplement ablenken. Einen ziemlich geringen Unterschied (1 : 2—3) haben wir selbst bei Versuchen mit dem Dysenteriebazillus, *A x a m i t* und *C r e n d i r o p u o u l o* bei solchen mit dem Cholerabazillus gefunden, sehr viel bedeutendere, z. B. *L e u c h s* und *S c h ö n e*, beim Typhusbazillus. Ob die Komplementbindung durch große Mengen von Bakterienstoffen, die man auch eine nichtspezifische nennen könnte, wesensgleich ist der spezifischen, die durch kleine Mengen dieser Stoffe mit Immunserum zusammen ausgeübt wird, bleibt noch strittig (§ 325). Die Ehrliche Schule spricht, wie wir sahen, im ersteren Fall von Absorption, im letzteren von chemischer Bindung, läßt auch das Komplement nicht unmittelbar an die Bakterienstoffe, sondern an die Immunkörper herantreten, die mit je einer bindenden Gruppe für das Antigen und das Komplement ausgestattet sein sollen („Ambozeptoren“). *B o r d e t* erklärt umgekehrt den Einfluß der Immunkörper nur als eine Begünstigung der Komplementaufnahme durch die Antigene. Wir möchten dem beistimmen, während wir mit *E h r l i c h* der Ansicht zuneigen, daß Immunkörper und Antigen sich hier wie überall durch bindende Gruppen vereinigen. Dadurch wird ja die Spezifität der Bakterien genügend gewährleistet.

Was die Beschaffenheit der spezifischen Reaginogene anlangt, so scheinen sie ebenso widerstandsfähig, z. B. gegen Erhitzen, Antiformin zu sein wie die nichtspezifischen komplementbindenden Bakterienstoffe, lassen sich auch in der gleichen Weise wie die meisten anderen Antigene aus den Bakterien darstellen¹⁾. Das erschwert natürlich die Entscheidung der Frage, ob die Reaginogene eigenartige Stoffe sind oder mit anderen Antigenen zusammenfallen. Am nächsten liegt es, die *B o r d e t* schen Ambozeptoren den bakteriolytischen und ihre Antigene den lysinogenen — mit anderen Worten im wesentlichen unseren Aggressinen — gleichzustellen. Das hat man darum oft getan und dementsprechend mittelst des *B o r d e t* - *G e n g o u* schen Komplementablenkungsverfahrens auch die Schutzkraft von Immunseren zu bestimmen gesucht. Bei näherer Prüfung haben sich aber allenthalben Widersprüche ergeben: es besteht durchaus kein Parallelismus zwischen Komplementbindungsvermögen und lytischer Kraft der Seren

1) Ob die Löslichkeit in 85% Alkohol, die nach *L e v a d i t i* und *M u t e r m i l c h* (Soc. biol. 1908) für die Reaginogene der Cholera besteht, ein sie besonders auszeichnendes Merkmal ist, wäre noch auszumachen. Über Alkohollöslichkeit von Antigenen s. o. S. 1106.

chemischer oder physikalischer Natur sei. Wir entscheiden uns wegen der Spezifität der Bindung für die erstere.

Wie B o r d e t selbst hervorhebt, ist der Streit insofern müßig, als wir über das Zustandekommen der sogenannten physikalischen Absorption nichts Sicheres wissen. Allgemeines Einverständnis herrscht auch darüber, daß sich die Antikörper bzw. Agglutinine zum großen Teil so fest an die Bakterien binden, daß man an eine chemische Bindung denken muß. Selbst A r r h e n i u s ¹⁾, der wie E i s e n b e r g ²⁾ die Aufnahme der Agglutinine in die Bakterien als einen „Verteilungsvorgang“ zwischen zwei Lösungsmitteln auffaßt, welcher vom G u l d b e r g - W a a g e s c h e n Gesetz des chemischen Gleichgewichts beherrscht sei und sich in eine einfache mathematische Formel³⁾ fassen lasse, läßt eine n a c h t r ä g l i c h e chemische Bindung zu. Von vornherein ist auch natürlich keine Einwendung dagegen zu erheben, daß man die Erfahrungen der „Kolloidchemie“ auf die Beziehungen der Antigene zu den Immunkörpern, die beide zu den Kolloiden gehören, anwendet⁴⁾ und die Niederschlagsbildungen der Kolloide mit den Agglutininen und Präzipitinen der Bakterien und Bakterienstoffe vergleicht (s. u. § 341). Aber gerade die Bindung der letzteren an die Agglutinine und übrigen Immunkörper hat trotz einiger Ähnlichkeiten in den quantitativen Verhältnissen etwas Besonderes an sich, nämlich die Arteigentümlichkeit, die „S p e z i f i z i t ä t“. Wir erklären sie uns am einfachsten mit bestimmten c h e m i s c h e n V e r w a n d t s c h a f t e n oder wie E h r l i c h es macht, durch das Vorhandensein von haptophoren (bindenden) Gruppen. Man wird dabei nach den früheren Feststellungen über die Trennbarkeit der Agglutininverbindungen (S. 1092) mit J o o s ⁵⁾ vermuten dürfen, daß die Verwandtschaft der zahlreichen Bindegruppen der Bakterien (S. 1094) zu den Agglutininen teils stärker, teils schwächer ist, gleichgültig ob man sich den Behauptungen dieses Forschers über die Mitbeteiligung anderer Bestandteile (Salze) an der Verbindung anschließt oder nicht (§ 340). Der Zukunft überlassen bleiben muß es, ob es gelingen wird, für die Agglutinogene ähnliche „Spektren“ zu entwerfen, wie es E h r l i c h für die giftigen Antigene getan hat (§ 264). Dazu wäre vor allem ein g e n a u e r e s S t u d i u m der Bindekraft der gelösten Agglutinogene (s. o. S. 1091), und um sie studieren zu können, ihre v o l l s t ä n d i g e Gewinnung aus den Bakterienleibern nötig. In den Bouillonfiltraten, selbst aus sehr alten Kulturen, ebenso wie in den Leiberextrakten gewinnt man immer nur einen Teil der Agglutinogene in freiem Zustande⁶⁾. Die alleinige Prüfung auf Agglutininbarkeit kann allerdings Täuschungen verursachen, weil diese, z. B. durch Erhitzung, verloren gehen, die Bindekraft erhalten bleiben kann (§ 341). Man wird daher, um die

1) Zeitschr. physikal. Chem. 46, 1904.

2) Zentr. Bakt. 34.

3) Einwendungen gegen diese Formel s. bei N e i ß e r, Zentr. Bakt. 36, 1904.

4) Vgl. S. 892 und die Lit. daselbst.

5) Zeitschr. f. Hyg. 36 und 40.

6) Vgl. E i s e n b e r g und V o l k im Gegensatz zu M a l v o z und N i c o l l e. S. die ähnlichen Verhältnisse bei den Angriffstoffen S. 1029.

Agglutinogene in Freiheit zu setzen, nur die Methoden anwenden dürfen, bei denen die Bakterienleiber vollständig und ohne Benutzung von Chemikalien oder höherer Temperatur aufgelöst werden. Nebenbei bemerkt würde an derartigen Lösungen vielleicht auch die Frage entschieden werden können, ob die homologen und heterologen Nebenagglutinine (S. 1090/1) Seitenketten an demselben Kern sind wie die Hauptagglutinine oder besondere Stoffe.

§ 340. Veränderungen des Bindungsvermögens der Agglutinogene. Das Bindungsvermögen der Agglutinogene scheint im allgemeinen gegen künstliche Eingriffe eher noch widerstandsfähiger zu sein als das immunisierende (vgl. aber S. 1058).

So gelang es Scheller (S. 1086), die nach Joos Vorgang hergestellten α - und β -Agglutinine sowohl durch unerhitzte als durch erhitzte Typhusbazillen zu absorbieren. Gekochte Bazillen erwiesen sich sogar mit stärkerem Bindungsvermögen begabt als die anderen. Letzteres kann freilich nicht regelmäßig sein, denn nach Eisenberg und Volk schädigt die Erhitzung, wenn sie über 58° hinausgeht, das Bindungsvermögen der Typhusbazillen (im feuchten Zustand) in ziemlich gleicher Weise, ob sie nun $65,100$ oder 144° erreicht¹⁾. Aus konzentriertem Serum wird dann von ihnen kaum die Hälfte der Agglutininmenge entzogen, als wenn sie unerhitzt sind. Bei hohen Serumverdünnungen treten die Unterschiede zurück. Behandlung mit verdünnter Salzsäure vernichtet ebensowenig das Agglutininbildungs- wie das Bindungsvermögen. Ähnliche Versuche mit gelösten Agglutinogenen fehlen, abgesehen von den schon früher erwähnten de Rossis²⁾, als Ersatz können auch nicht die mit Präzipitinogenen gemachten Erfahrungen dienen, da sie im wesentlichen nur die Fällbarkeit oder Löslichkeit in Alkohol u. dgl. betreffen.

Weit größere Unterschiede im Bindungsvermögen ergeben sich beim Vergleich verschiedener Stämme einer und derselben Bakterienart, mögen sie natürliche oder künstliche Abarten sein. Das hat sich z. B. bei Typhus-, Paratyphus-, Cholera-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen gezeigt. Die Versuche, feste Beziehungen zwischen der immunisierenden und bindenden Fähigkeit oder auch der Virulenz der einzelnen Stämme aufzustellen, sind, wie wir schon früher sahen (S. 1058, 1090), zum großen Teil gescheitert. Wenn man überhaupt von einer Regel sprechen darf, so hat sie jedenfalls viele Ausnahmen.

So wird man sich auch nicht wundern können, wenn gelegentlich³⁾ das früher von uns aufgestellte Gesetz (S. 1091), nach dem im Castel-

1) Bei den von de Rossi (s. o. S. 1089) studierten Heubazillen wird das Agglutininbindungs- und Bindungsvermögen schon bei 62° zum größten Teil zerstört (Zentr. Bakt. 40. 702, 1906).

2) Vgl. Anm. 1.

3) Posselt und Sagasser, Wien. klin. Woch. 1903; Zupnik und Posner, Prag. med. Woch. 1903; Hetsch und Lentz, Festschrift für Koch, 1904.

lanischen Versuch die sämtlichen Agglutinine durch den Stamm, der sie erzeugt hat, abgesättigt werden, durchbrochen wird und z. B. die (heterologen) Nebenagglutinine dabei nicht verschwinden. Man wird unter diesen Umständen hier wie im Falle der Toxine (§ 279) und Aggressine (§ 327) den immunkörperbindenden und immunisierenden Bestandteil des Agglutinogens nicht einfach identifizieren dürfen, sondern in der früher angegebenen Weise zu Hilfsvorstellungen greifen müssen.

§ 341. Agglutinierbarkeit. Mit dem Agglutininbildungs- und -bindungsvermögen sind aber noch nicht alle Eigenschaften der Agglutinogene erschöpft, denn aus ihnen folgt noch nicht ohne weiteres die Fähigkeit der Bakterien, durch die Agglutinine zu „verkleben“, zu „verklumpen“, „auszuflocken“, ihre **A g g l u t i n i e r b a r k e i t**. Die letztere Eigenschaft ist vielmehr in weitem Maße unabhängig von den ersteren.

Nachgewiesen wurde das zuerst durch **Eisenberg** und **Volk**, die beobachteten, daß (feuchte) Typhusbazillen nach halbstündigem Erhitzen auf 58° normale Bindungs- und Agglutinationsverhältnisse, aber nach Anwendung höherer Temperaturen, insbesondere von 100°, nur noch Spuren, nach solchen von 144° überhaupt keine Agglutinierbarkeit mehr zeigen, während ihr Bindungsvermögen durch Temperaturen über 58° gleichmäßig und lange nicht in demselben Grade geschädigt wird. Bei Cholera-bazillen wurde freilich selbst durch Erhitzung auf 170° weder Bindungswert noch Agglutinierbarkeit erheblich herabgesetzt¹⁾, dagegen büßten sie die letztere zum größten Teil — die Typhusbazillen vollständig — ein, wenn sie in 0,4—10 prozentiger Salzsäure eine Stunde bei 37° gehalten und durch nachher vorgenommene Neutralisierung von einer weitergehenden Säurewirkung geschützt wurden²⁾.

Eisenberg und **Friedberger** unterscheiden daher am Agglutinogen eine „bindende“ und „fällbare“ Gruppe („agglutinierbare Substanz“), und schreiben der letzteren eine geringere, aber je

1) **Porges** (Zeitschr. f. exper. Path. 1, 1905) fand dagegen, daß Typhus- und Cholera-bazillen zwischen 65° und 90° ihre Agglutinierbarkeit verlieren, sie aber bei 100—144° wiedergewinnen. Ein hemmender Stoff (Nuklein?), dessen Einwirkung durch konzentrierte Kochsalzlösung behoben werden kann, soll daran schuld sein; vgl. übrigens die ähnlichen Verhältnisse bei der Verdaulichkeit § 10.

2) **Wassermann** (Zeitschr. f. Hyg. 42) bestätigt diesen Befund. Nach **Weil** liegt das Optimum der Agglutinierbarkeit für Typhusbazillen bei 52—55°, bei 65° wird sie aufgehoben. Außer Cholera-bazillen vertragen auch Staphylokokken selbst das Erhitzen auf 100° (Zentr. Bakt. 36 u. 37). Vgl. auch **de Rossi** Heubazillen S. 1089. Bei diesen besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen Agglutinierbarkeit und dem Zustand der Geißeln. Daß die Geißeln selbst bei der Agglutination unverändert bleiben, zeigten **de Rossi** (Zentr. Bakt. 36. 689) und **Hinterberger** (ebenda 45).

nach der Bakterienart wechselnde Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse zu¹⁾).

Angeregt wurden die beiden Forscher zu diesen Untersuchungen durch Angaben von Wid al und Sicard, v a n d e V e l d e, M a l v o z und N i c o l l e über das Ausbleiben der Agglutination bei Bakterien, die durch Hitze oder Aufenthalt in älteren Kulturen verändert waren. Letzteres konnten E i s e n b e r g und V o l k zwar nicht bestätigen, es kann aber doch wohl in anderen Fällen zu recht bestehen.

Kälte, Formalin, Sublimat, Chloroform, Thymol u. a. m. sind nach den oben genannten Forschern ohne Einfluß auf die agglutinierbare Substanz. Jedoch hat S e l t e r in meinem Laboratorium gefunden, daß Formalinzusatz zu Typhusbazillenkulturen — in Form des F i c k e r s c h e n „Typhusdiagnostikums“ — doch deren Agglutinierbarkeit in gewissem Grade beeinträchtigt. In konzentrierten Gaben und bei längerer Einwirkung werden wohl alle Antiseptika die agglutinierbare Substanz nicht unberührt lassen. Daß der Alkohol sogar die immunisierende Fähigkeit der Agglutinogene unter diesen Umständen zerstört, haben wir schon früher mitgeteilt (S. 1088). Nach N i c o l l e soll allerdings Alkohol und Äther die „substance agglutinée“ nicht schädigen, aber er arbeitete in der Weise, daß er t r o c k e n e Bakterien mit diesem Stoffe 2 Tage lang auszog und den eingedunsteten Extrakt in Bouillon aufgelöst mit agglutinierendem Serum versetzte und auf Niederschlagsbildung prüfte. Die letztere kann übrigens nur dann auf das Vorhandensein agglutinierbarer Substanz bezogen werden, wenn man diese der „präzipitierbaren“ Substanz gleichsetzt. Vieles spricht allerdings dafür (s. u. §. 342). Auch nach P i c k, K r a u s und v. P i r q u e t enthält die präzipitierbare Substanz alkohollösliche Bestandteile.

Vieldeutig erscheint zunächst die von B o r d e t ²⁾ zuerst festgestellte und dann von N o l f, J o o s, F r i e d b e r g e r ³⁾, E i s e n b e r g und V o l k, P o r g e s ⁴⁾ studierte Einwirkung der S a l z e und anderer kristallisierbarer Körper (wie Zucker, Leuzin) auf die Agglutination. Völliger Mangel derartiger Stoffe in der Aufschwemmung verhindert sie, Zusatz selbst kleiner Mengen ruft sie wieder hervor, höhere Konzentrationen hemmen oder verhindern sie ebenfalls, ohne daß aber eine nachträgliche Verdünnung die Hemmung beseitigte. Man hat sich diese Wirkungen verschieden erklärt. Nach J o o s und P o r g e s ist eine gewisse Menge Salz insofern nötig zur Agglutination,

1) Agglutinogene ohne agglutinierbare Gruppe würde man am besten Agglutinogenoid nennen, wenn das Wort nicht zu fürchterlich klänge. Agglutinoid, das K r a u s vorschlägt, ist schon vergeben an die Abart des Agglutinins, die eine bindende, aber keine agglutinierende Gruppe besitzt. Eine weitere Verwicklung besteht darin, daß die bindenden Bestandteile der Agglutinogene, wie wir oben gesehen, nicht völlig zusammenfallen mit den agglutinin erzeugenden. Wir haben hier wieder in gewissem Sinne ähnliche Verhältnisse wie bei den Agressinen bzw. Lysinogenen (§ 327).

2) Annal. Pasteur 1899.

3) Zentr. Bakt. 30, 1901.

4) Ebenda 40, 1903.

§ 344. **Anaphylaxogene.** Spezifische Überempfindlichkeit für bakterielle Stoffe wurde zuerst 1890 von R. Koch bei Tieren und namentlich Menschen, die auch nur Spuren tuberkulöser Veränderungen im Körper trugen, nach Einspritzung von Tuberkulin beobachtet (§ 304): Gaben, die sonst ganz ohne Wirkung blieben, riefen hier starke örtliche und allgemeine Reaktionen, ja, wenn sie groß genug waren, den Tod hervor. Später hat man gefunden, daß man statt der subkutanen Prüfung mit Tuberkulin auch die intrakutane Impfung, die Einreibung in die Haut, die Einträufelung in den Bindehautsack benutzen kann (kutane, perkutane, Ophthalmoreaktion usw.) und daß die Überempfindlichkeit auch die Folge ist nicht bloß von Infektionen mit lebenden Tuberkelbazillen, sondern schon von Behandlung mit Tuberkulin selbst unter der Voraussetzung, daß man die Behandlung in bestimmter Weise, nämlich mit kleinen Gaben vornimmt¹⁾. Auch mit zahlreichen anderen Bakteriengiften hat man Überempfindlichkeit hervorgerufen.

Hierher gehört zunächst die Überempfindlichkeit rotziger Tiere gegen Mallein (Malleinprobe S. 987), vielleicht auch die der Leprakranken gegen Nastin (Deycke 1905), der Vaccinierten gegen stark verdünnte oder sterilisierte Lymphe (Knöpfelmacher 1907), sowie die etwas zweifelhafteren Erscheinungen, die bei Diphtheriekranken und -Rekonvaleszenten durch Diphtheriegift hervorgerufen werden (Schick, Entz 1908) u. a. m. Überempfindlichkeit gegen letzteres Gift hatte Behring schon lange vorher²⁾ bei Immunisierungsversuchen an Tieren beobachtet. Sie ist bei Meerschweinchen so groß, daß sie bei wiederholter Darreichung kleinster Gaben schon zugrunde gehen, wenn die Gesamtmenge 400 mal kleiner ist als diejenige, die bei einmaliger Einspritzung genügt, um den Tod hervorzurufen. Ähnliche Verhältnisse bestehen beim Tetanusgift nach Brieger, Behring und Wladimiroff³⁾ u. a. Auch hier zeigen sich große Unterschiede bei den einzelnen Tieren, die der Behandlung unterworfen werden, insofern z. B. nach Knorr⁴⁾ die für das Gift am meisten empfänglichen Meerschweinchen schon durch kleinste Gaben überempfindlich werden, die viel weniger empfänglichen Kaninchen aber nicht, und die zur Gewinnung von Heilserum mit Gift behandelten Pferde der Regel nach lange Zeit die Einspritzungen vertragen, aber ausnahmsweise und scheinbar plötzlich überempfindlich werden können. Dabei tritt oft, und zwar weniger bei den kleinen als bei den großen Tieren, die wichtige Tatsache ans Licht, daß ein reichlicher Gehalt des Blutes an Antitoxin durchaus verträglich ist mit der Überempfindlichkeit gegen das Gift. Auch bei Impfung großer

1) Löwenstein und Rappaport, Zeitschr. f. Tuberk. 5. 1904.

2) Deutsch. med. Woch. 1893. 48 und 1898. 42 B und Kitashima, Berl. klin. Woch. 1901. 6; vgl. auch Kretz' paradoxe Reaktion S. 898.

3) Zeitschr. f. Hyg. 15. 414, 1893.

4) Habilitationsschrift Marburg 1895.

und kleiner Tiere mit den Stoffen solcher Bakterien, die man gewöhnlich als Endotoxinbildner bezeichnet, hat man gelegentlich Überempfindlichkeit beobachtet. So sah A. Wolff¹⁾ Kaninchen wiederholte Einspritzungen in die Venen oder in die Bauchhöhle, ohne daß eine Steigerung der Bakteriengaben stattgefunden hatte, immer schlechter vertragen und schließlich fast ohne Inkubationszeit in wenigen Minuten oder Stunden unter gewaltiger Atembeklemmung und Krämpfen eingehen. Wir selbst beobachteten bei Pferden und Eseln, die intravenös gegen Typhus oder Ruhr immunisiert wurden, hier und da die gleichen gefährlichen Erscheinungen, ebenso Kraus und Stenitzer²⁾ bei Typhus- und Paratyphusziegen, ferner Rosenau und Anderson³⁾ bei Meerschweinchen, die sie mit Extrakten von Coli-, Typhus-, Heu-, Milzbrand-, Tuberkelbazillen⁴⁾ oder Hefepilzen, Kraus und Dörr⁵⁾ bei solchen, die sie mit Auszügen von Ruhr- und Typhusbazillen und Vibrionen behandelt hatten. Weil und Braun⁶⁾ haben zwar die letzten Versuche nicht bestätigen können, das liegt aber nach Holobut⁷⁾ an ihrer Methodik. Am sichersten geht man, wenn man sehr kleine Mengen auf 70° erhitzter Bakterienaufschwemmung Meerschweinchen 10 Tage hintereinander unter die Haut einspritzt und dann etwa nach 3 Wochen eine größere Gabe in das Blut einführt. Wir konnten das für eine ganze Reihe von Bakteriengiften bestätigen⁸⁾. Bei anderen Tieren, z. B. Hunden, ist es nach Kraus und Biedl⁹⁾ schwieriger, diese Überempfindlichkeit gegen Endotoxine zu erzeugen, und ihre Spezifität ist noch nicht über allen Zweifel gestellt. Vielleicht besteht sie aber auch hier, wenn man den quantitativen Verhältnissen Rechnung trägt. Das dürfte überhaupt in allen solchen Versuchen — auch beim Meerschweinchen¹⁰⁾ — nicht außer acht gelassen werden. Längst bekannt ist das ja geworden durch die bei der Tuberkulinreaktion gemachten Erfahrungen (§ 304).

Wie haben wir nun die Überempfindlichkeit gegen Bakteriengifte zu deuten? Daß sie nichts unmittelbar zu tun hat mit den aggressiven Wirkungen, d. h. der Überempfindlichkeit gegen die Infektion hervorrufenden Leistungen der Bakterienstoffe (§ 319 ff.), wie es manchmal behauptet worden ist, kann kaum einem Zweifel unterliegen, denn der aggressive Zustand kennzeichnet sich durch seine schnelle Entstehung und sein allermeist ebenso schnelles Vorübergehen. Alle Beobachter stimmen ja darin überein, daß sich die Überempfind-

1) Zentr. Bakt. 37. 576.

2) Wien. klin. Woch. 1908. 18. ,

3) Ref. Bull. Annal. Pasteur 1907. 855.

4) Vgl. die Versuche Bails mit lebenden Tuberkelbazillen und Tuberkulin (Wien. klin. Woch. 1904. 30) und die von Rist mit Diphtheriebazillenleibern (Soc. biol. 1903. 25).

5) Wien. klin. Woch. 1908. 28.

6) 3. Tagg. Verein f. Mikrobiol. Zentr. Bakt. Refer. 44, Beil. 1909.

7) Zeitschr. f. Immunitätsforschg. 3. 639, 1909. Vgl. ebenda 4. 607.

8) Bockmann, Gießener mediz. Dissert., 1910.

9) 3. Tagg. f. Mikrobiol. s. o. Anm. 6 und u. S. 1121.

10) Vgl. Holobut gegen Delanoë (Thèse de Montpellier 1909).

chemischer oder physikalischer Natur sei. Wir entscheiden uns wegen der Spezifität der Bindung für die erstere.

Wie B o r d e t selbst hervorhebt, ist der Streit insofern müßig, als wir über das Zustandekommen der sogenannten physikalischen Absorption nichts Sicheres wissen. Allgemeines Einverständnis herrscht auch darüber, daß sich die Antikörper bzw. Agglutinine zum großen Teil so fest an die Bakterien binden, daß man an eine chemische Bindung denken muß. Selbst A r r h e n i u s ¹⁾, der wie E i s e n b e r g ²⁾ die Aufnahme der Agglutinine in die Bakterien als einen „Verteilungsvorgang“ zwischen zwei Lösungsmitteln auffaßt, welcher vom G u l d b e r g - W a a g e s c h e n Gesetz des chemischen Gleichgewichts beherrscht sei und sich in eine einfache mathematische Formel³⁾ fassen lasse, läßt eine n a c h t r ä g l i c h e chemische Bindung zu. Von vornherein ist auch natürlich keine Einwendung dagegen zu erheben, daß man die Erfahrungen der „Kolloidchemie“ auf die Beziehungen der Antigene zu den Immunkörpern, die beide zu den Kolloiden gehören, anwendet⁴⁾ und die Niederschlagsbildungen der Kolloide mit den Agglutininen und Präzipitinen der Bakterien und Bakterienstoffe vergleicht (s. u. § 341). Aber gerade die Bindung der letzteren an die Agglutinine und übrigen Immunkörper hat trotz einiger Ähnlichkeiten in den quantitativen Verhältnissen etwas Besonderes an sich, nämlich die Arteigentümlichkeit, die „S p e z i f i z i t ä t“. Wir erklären sie uns am einfachsten mit bestimmten c h e m i s c h e n V e r w a n d t s c h a f t e n oder wie E h r l i c h es macht, durch das Vorhandensein von haptophoren (bindenden) Gruppen. Man wird dabei nach den früheren Feststellungen über die Trennbarkeit der Agglutininverbindungen (S. 1092) mit J o o s ⁵⁾ vermuten dürfen, daß die Verwandtschaft der zahlreichen Bindegruppen der Bakterien (S. 1094) zu den Agglutininen teils stärker, teils schwächer ist, gleichgültig ob man sich den Behauptungen dieses Forschers über die Mitbeteiligung anderer Bestandteile (Salze) an der Verbindung anschließt oder nicht (§ 340). Der Zukunft überlassen bleiben muß es, ob es gelingen wird, für die Agglutinogene ähnliche „Spektren“ zu entwerfen, wie es E h r l i c h für die giftigen Antigene getan hat (§ 264). Dazu wäre vor allem ein g e n a u e r e s S t u d i u m der Bindekraft der gelösten Agglutinogene (s. o. S. 1091), und um sie studieren zu können, ihre vollständige Gewinnung aus den Bakterienleibern nötig. In den Bouillonfiltraten, selbst aus sehr alten Kulturen, ebenso wie in den Leiberextrakten gewinnt man immer nur einen Teil der Agglutinogene in freiem Zustande⁶⁾. Die alleinige Prüfung auf Agglutinierbarkeit kann allerdings Täuschungen verursachen, weil diese, z. B. durch Erhitzung, verloren gehen, die Bindekraft erhalten bleiben kann (§ 341). Man wird daher, um die

1) Zeitschr. physikal. Chem. 46, 1904.

2) Zentr. Bakt. 34.

3) Einwendungen gegen diese Formel s. bei N e i ß e r, Zentr. Bakt. 36, 1904.

4) Vgl. S. 892 und die Lit. daselbst.

5) Zeitschr. f. Hyg. 36 und 40.

6) Vgl. E i s e n b e r g und V o l k im Gegensatz zu M a l v o z und N i c o l l e. S. die ähnlichen Verhältnisse bei den Angriffstoffen S. 1029.

Agglutinogene in Freiheit zu setzen, nur die Methoden anwenden dürfen, bei denen die Bakterienleiber vollständig und ohne Benutzung von Chemikalien oder höherer Temperatur aufgelöst werden. Nebenbei bemerkt würde an derartigen Lösungen vielleicht auch die Frage entschieden werden können, ob die homologen und heterologen Nebenagglutinine (S. 1090/1) Seitenketten an demselben Kern sind wie die Hauptagglutinine oder besondere Stoffe.

§ 340. Veränderungen des Bindungsvermögens der Agglutinogene. Das Bindungsvermögen der Agglutinogene scheint im allgemeinen gegen künstliche Eingriffe eher noch widerstandsfähiger zu sein als das immunisierende (vgl. aber S. 1058).

So gelang es Scheller (S. 1086), die nach Joos Vorgang hergestellten α - und β -Agglutinine sowohl durch unerhitzte als durch erhitzte Typhusbazillen zu absorbieren. Gekochte Bazillen erwiesen sich sogar mit stärkerem Bindungsvermögen begabt als die anderen. Letzteres kann freilich nicht regelmäßig sein, denn nach Eisenberg und Volk schädigt die Erhitzung, wenn sie über 58° hinausgeht, das Bindungsvermögen der Typhusbazillen (im feuchten Zustand) in ziemlich gleicher Weise, ob sie nun $65,100$ oder 144° erreicht¹⁾. Aus konzentriertem Serum wird dann von ihnen kaum die Hälfte der Agglutininmenge entzogen, als wenn sie unerhitzt sind. Bei hohen Serumverdünnungen treten die Unterschiede zurück. Behandlung mit verdünnter Salzsäure vernichtet ebensowenig das Agglutininbildungs- wie das Bindungsvermögen. Ähnliche Versuche mit gelösten Agglutinogenen fehlen, abgesehen von den schon früher erwähnten de Rossis²⁾, als Ersatz können auch nicht die mit Präzipitinogenen gemachten Erfahrungen dienen, da sie im wesentlichen nur die Fällbarkeit oder Löslichkeit in Alkohol u. dgl. betreffen.

Weit größere Unterschiede im Bindungsvermögen ergeben sich beim Vergleich verschiedener Stämme einer und derselben Bakterienart, mögen sie natürliche oder künstliche Abarten sein. Das hat sich z. B. bei Typhus-, Paratyphus-, Cholera-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen gezeigt. Die Versuche, feste Beziehungen zwischen der immunisierenden und bindenden Fähigkeit oder auch der Virulenz der einzelnen Stämme aufzustellen, sind, wie wir schon früher sahen (S. 1058, 1090), zum großen Teil gescheitert. Wenn man überhaupt von einer Regel sprechen darf, so hat sie jedenfalls viele Ausnahmen.

So wird man sich auch nicht wundern können, wenn gelegentlich³⁾ das früher von uns aufgestellte Gesetz (S. 1091), nach dem im Castel-

1) Bei den von de Rossi (s. o. S. 1089) studierten Heubazillen wird das Agglutininbindungs- und Bindungsvermögen schon bei 62° zum größten Teil zerstört (Zentr. Bakt. 40. 702, 1906).

2) Vgl. Anm. 1.

3) Posselt und Sagasser, Wien. klin. Woch. 1903; Zupnik und Posner, Prag. med. Woch. 1903; Hetsch und Lentz, Festschrift für Koch, 1904.

lanischen Versuch die sämtlichen Agglutinine durch den Stamm, der sie erzeugt hat, abgesättigt werden, durchbrochen wird und z. B. die (heterologen) Nebenagglutinine dabei nicht verschwinden. Man wird unter diesen Umständen hier wie im Falle der Toxine (§ 279) und Aggressine (§ 327) den immunkörperbindenden und immunisierenden Bestandteil des Agglutinogens nicht einfach identifizieren dürfen, sondern in der früher angegebenen Weise zu Hilfsvorstellungen greifen müssen.

§ 341. **Agglutinierbarkeit.** Mit dem Agglutininbildungs- und -bindungsvermögen sind aber noch nicht alle Eigenschaften der Agglutinogene erschöpft, denn aus ihnen folgt noch nicht ohne weiteres die Fähigkeit der Bakterien, durch die Agglutinine zu „verkleben“, zu „verklumpen“, „auszuflocken“, ihre **Agglutinierbarkeit**. Die letztere Eigenschaft ist vielmehr in weitem Maße unabhängig von den ersteren.

Nachgewiesen wurde das zuerst durch **Eisenberg** und **Volk**, die beobachteten, daß (feuchte) Typhusbazillen nach halbstündigem Erhitzen auf 58° normale Bindungs- und Agglutinationsverhältnisse, aber nach Anwendung höherer Temperaturen, insbesondere von 100°, nur noch Spuren, nach solchen von 144° überhaupt keine Agglutinierbarkeit mehr zeigen, während ihr Bindungsvermögen durch Temperaturen über 58° gleichmäßig und lange nicht in demselben Grade geschädigt wird. Bei Cholera-bazillen wurde freilich selbst durch Erhitzung auf 170° weder Bindungswert noch Agglutinierbarkeit erheblich herabgesetzt¹⁾, dagegen büßten sie die letztere zum größten Teil — die Typhusbazillen vollständig — ein, wenn sie in 0,4—10 prozentiger Salzsäure eine Stunde bei 37° gehalten und durch nachher vorgenommene Neutralisierung von einer weitergehenden Säurewirkung geschützt wurden²⁾.

Eisenberg und **Friedberger** unterscheiden daher am Agglutinogen eine „bindende“ und „fällbare“ Gruppe („agglutinierbare Substanz“), und schreiben der letzteren eine geringere, aber je

1) **Porges** (Zeitschr. f. exper. Path. 1, 1905) fand dagegen, daß Typhus- und Cholera-bazillen zwischen 65° und 90° ihre Agglutinierbarkeit verlieren, sie aber bei 100—144° wiedergewinnen. Ein hemmender Stoff (Nuklein?), dessen Einwirkung durch konzentrierte Kochsalzlösung behoben werden kann, soll daran schuld sein; vgl. übrigens die ähnlichen Verhältnisse bei der Verdaulichkeit § 10.

2) **Wassermann** (Zeitschr. f. Hyg. 42) bestätigt diesen Befund. Nach **Weil** liegt das Optimum der Agglutinierbarkeit für Typhusbazillen bei 52—55°, bei 65° wird sie aufgehoben. Außer Cholera-bazillen vertragen auch Staphylokokken selbst das Erhitzen auf 100° (Zentr. Bakt. 36 u. 37). Vgl. auch **de Rossi's** Heubazillen S. 1089. Bei diesen besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen Agglutinierbarkeit und dem Zustand der Geißeln. Daß die Geißeln selbst bei der Agglutination unverändert bleiben, zeigten **de Rossi** (Zentr. Bakt. 36. 689) und **Hinterberger** (ebenda 45).

nach der Bakterienart wechselnde Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse zu¹⁾).

Angeregt wurden die beiden Forscher zu diesen Untersuchungen durch Angaben von Wid al und Sicard, v a n d e V e l d e, M a l v o z und Nicolle über das Ausbleiben der Agglutination bei Bakterien, die durch Hitze oder Aufenthalt in älteren Kulturen verändert waren. Letzteres konnten Eisenberg und Volk zwar nicht bestätigen, es kann aber doch wohl in anderen Fällen zu recht bestehen.

Kälte, Formalin, Sublimat, Chloroform, Thymol u. a. m. sind nach den oben genannten Forschern ohne Einfluß auf die agglutinierbare Substanz. Jedoch hat Selter in meinem Laboratorium gefunden, daß Formalinzusatz zu Typhusbazillenkulturen — in Form des Fickerschen „Typhusdiagnostikums“ — doch deren Agglutinierbarkeit in gewissem Grade beeinträchtigt. In konzentrierten Gaben und bei längerer Einwirkung werden wohl alle Antiseptika die agglutinierbare Substanz nicht unberührt lassen. Daß der Alkohol sogar die immunisierende Fähigkeit der Agglutinogene unter diesen Umständen zerstört, haben wir schon früher mitgeteilt (S. 1088). Nach Nicolle soll allerdings Alkohol und Äther die „substance agglutinée“ nicht schädigen, aber er arbeitete in der Weise, daß er trockene Bakterien mit diesem Stoffe 2 Tage lang auszog und den eingedunsteten Extrakt in Bouillon aufgelöst mit agglutinierendem Serum versetzte und auf Niederschlagsbildung prüfte. Die letztere kann übrigens nur dann auf das Vorhandensein agglutinierbarer Substanz bezogen werden, wenn man diese der „präzipitierbaren“ Substanz gleichsetzt. Vieles spricht allerdings dafür (s. u. §. 342). Auch nach Pick, Kraus und v. Pirquet enthält die präzipitierbare Substanz alkohollösliche Bestandteile.

Vieldeutig erscheint zunächst die von Bordet²⁾ zuerst festgestellte und dann von Nolf, Joos, Friedberger³⁾, Eisenberg und Volk, Porges⁴⁾ studierte Einwirkung der Salze und anderer kristallisierbarer Körper (wie Zucker, Leuzin) auf die Agglutination. Völliger Mangel derartiger Stoffe in der Aufschwemmung verhindert sie, Zusatz selbst kleiner Mengen ruft sie wieder hervor, höhere Konzentrationen hemmen oder verhindern sie ebenfalls, ohne daß aber eine nachträgliche Verdünnung die Hemmung beseitigte. Man hat sich diese Wirkungen verschieden erklärt. Nach Joos und Porges ist eine gewisse Menge Salz insofern nötig zur Agglutination,

1) Agglutinogene ohne agglutinierbare Gruppe würde man am besten Agglutinogenoid nennen, wenn das Wort nicht zu fürchterlich klänge. Agglutinoid, das Kraus vorschlägt, ist schon vergeben an die Abart des Agglutinins, die eine bindende, aber keine agglutinierende Gruppe besitzt. Eine weitere Verwicklung besteht darin, daß die bindenden Bestandteile der Agglutinogene, wie wir oben gesehen, nicht völlig zusammenfallen mit den agglutinin erzeugenden. Wir haben hier wieder in gewissem Sinne ähnliche Verhältnisse wie bei den Agressinen bzw. Lysinogenen (§ 327).

2) Annal. Pasteur 1899.

3) Zentr. Bakt. 30, 1901.

4) Ebenda 40, 1903.

blutige, in ein bis mehreren Tagen zum Tode führende Darmentzündung durch die übrigen anaphylaktischen Gifte — so z. B. auch durch größere Gaben Peptons — von uns und anscheinend auch von anderen nicht erhalten worden ist (vgl. aber Schittenhelm und Weichardt Münch. med. Woch. 1910, 34).

Vergleicht man alle diese Angaben über anaphylaktische Gifte miteinander, so bekommt man allerdings den Eindruck, daß es auf verschiedene Weise gelingt, aus allen möglichen, auch nicht bakteriellen „Eiweißstoffen“ bzw. verwickelt gebauten „Antigenen“ durch Verdauung, Fäulnis, Serum-(Komplement?)Einwirkung und chemische Behandlung Körper zu gewinnen, die eine der anaphylaktischen wenigstens sehr ähnliche Vergiftung verursachen. Rein dargestellt ist bisher davon nur das Sepsin durch Bergmann und Schmiedberg (S. 810), sowie Faust (S. 816). Daß es in jedem Fall und allein in Frage käme, wollen wir damit aber nicht etwa sagen. Wir können uns ganz gut denken, daß verschiedene Eiweißabkömmlinge die gleichen physiologischen Eigenschaften besitzen.

Sehr zweifelhaft erscheint es uns ferner, ob sich die sämtlichen, bisher meist auf Endotoxine zurückgeführten Vergiftungserscheinungen bei Infektionskrankheiten, wie es Vaughan, Nicolle, Friedberger u. a. wollen, durch die Wirkungen des „Apotoxins“ oder „Anaphylatoxins“ erklären lassen¹⁾. Hin und wieder wird es ja in Betracht kommen.

Daß bei seiner Entstehung Serumbestandteile, vielleicht auch das sog. Komplement selbst, eine Rolle spielen, ist wohl sicher, aber bisher ist es kaum zu entscheiden, durch welche Antikörper diese „Komplementbindung“ vermittelt wird, namentlich auch nicht, ob die „Anaphylaxine“ mit den Präzipitinen, Reaginen oder Lysinen völlig zu identifizieren sind (vgl. S. 1111). Das gleiche gilt von der Natur der Anaphylaxogene. Ihre wesentliche Übereinstimmung mit den übrigen Antigenen in allen äußeren Eigenschaften, z. B. was Verhalten gegen Erhitzung und Verdauung anlangt²⁾, ist darum doch nicht zu leugnen, beweist ja aber, wie wir bei jenen immer wieder gesehen, nichts für die wirkliche Identität.

Wir begnügen uns mit diesen Bemerkungen über die Anaphylaxogene bzw. Anaphylaxie und verweisen im übrigen auf die Literatur (S. 1116 Anm. 2), die zeigt, daß noch viele ungelöste Widersprüche vorliegen. Hier nur noch einige Bemerkungen, die für die experimentelle Behandlung der Frage von Bedeutung sind. Vor allem wichtig ist das sehr ungleiche Verhalten der einzelnen Versuchstiere. Am besten eignet sich

1) Fieber, das nach Friedberger durch kleine Gaben Anaphylatoxins erzeugt werden soll, haben wir z. B. nicht beobachtet.

2) Vgl. dazu namentlich bei Dörr a. a. O. (1910). Nur die Impfgifte (der Diphtherie, des Tetanus) machen eine Ausnahme. Nach Dörr wäre sie nur scheinbar, insofern die wirklichen Anaphylaxogene den Toxinen nur beigemischt wären. Das stimmt aber nicht mit Behrings Angabe, daß Antitoxinbeigabe den Eintritt der Überempfindlichkeit verhindere.

zu Anaphylaxieversuchen anscheinend das Meerschweinchen. Es ist schon durch einmalige ganz winzige Gaben von Eiweiß u. dgl., die subkutan verabreicht werden, überempfindlich zu machen, während zur Hervorrufung des anaphylaktischen Vergiftungsbildes, d. h. zur „Reinjektion“, eine sehr viel (z. B. 1000 mal) größere Gabe — am besten intravenös zu verabreichen — nötig ist. Die Bakterienanaphylaxie verlangt allerdings gewöhnlich eine wiederholte, z. B. 3—9 Tage lange Vorbehandlung mit abgetöteten Leibern von Extrakten, bei lebenden Bakterien reicht aber (nur, wenn sie sich im Körper vorübergehend vermehren können?), eine einmalige Infektion aus (Bockmann). Passive Übertragung des anaphylaktischen Zustands gelingt leicht von Meerschweinchen auf Meerschweinchen, aber auch oft von anderen Tieren auf diese. Das Vergiftungsbild besteht in starker Aufregung, Juckreiz, Atemnot mit vertiefter unterbrochener Atmung, Krämpfen und Tod in wenigen Minuten bis Stunden. Bei leichteren Vergiftungen haben wir den von H. Pfeiffer behaupteten Temperaturabfall als wichtiges Merkmal bestätigt. Allerdings muß er spätestens in einer halben Stunde eintreten und — bei schnellster Ausführung der Operation — mehr als 2° betragen. Beim Tode findet man die Lunge mehr oder weniger in Expirationsstellung (Lungenblutung durch Krampf der Bronchiolen, der durch Atropin verhütet werden kann; Auer und Lewis, Biedl und Kraus). Regelmäßig besteht eine mehr oder weniger ausgesprochene Komplementverarmung des Blutes (Friedberger). Bei überempfindlichen Tieren beobachtet man die Antianaphylaxie, d. h. das Ausbleiben der Vergiftung in der ersten Zeit — unter Umständen wochenlang — bei einer wiederholten Prüfung mit Antigen.

Kaninchen sind viel weniger brauchbar, weil sie weniger beständig und nur auf größere Gaben und schließlich sogar auch nicht spezifisch reagieren, sich schwerer passiv anaphylaktisch machen lassen, sowie seltener Antianaphylaxie zeigen. Die Vergiftung ist sonst eine ähnliche. Hunde bieten dagegen ein ganz anderes Vergiftungsbild dar: sie werden nach einem Stadium der Aufregung mit (oft blutigem) Brechen, Abgang von Kot und Urin, schlaff, fast soporös, sterben aber niemals in diesem Zustand. Dyspnöe fehlt; das Blut verliert seine Gerinnbarkeit und Leukozyten, während Blutplättchen und Lymphozyten reichlicher auftreten. Als hauptsächlichste Ursache der Erscheinungen ermittelten Biedl und Kraus eine Blutdrucksenkung, die durch Lähmung der peripherischen Gefäßzentren (namentlich der Baueingeweide) erklärt wird. Chlorbarium soll sie verhüten. Arthus schildert die anaphylaktische Vergiftung ähnlich, hält sie aber für nicht spezifisch. Die sehr ungleiche Empfindlichkeit der Hunde erschwert nach unserer Erfahrung das Arbeiten mit ihnen sehr.

Zu praktischen diagnostischen Zwecken läßt sich die Bakterienanaphylaxie, wenn man von den Tuberkulin- und Malleinreaktionen in ihren verschiedenen Formen (S. 1114) absieht, bisher kaum verwenden. Jedenfalls steht sie hinter der Agglutination (und Komplementbindung) vorläufig noch zurück (vgl. Ascoli¹), Bockmann a. a. O.). Bei der Eiweißanaphylaxie liegen die Dinge günstiger²).

1) Compt. rend. soc. biol. 65. 611, 1908.

2) Uhlenhuth und Händel, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 4.

chemischer oder physikalischer Natur sei. Wir entscheiden uns wegen der Spezifität der Bindung für die erstere.

Wie B o r d e t selbst hervorhebt, ist der Streit insofern müßig, als wir über das Zustandekommen der sogenannten physikalischen Absorption nichts Sicheres wissen. Allgemeines Einverständnis herrscht auch darüber, daß sich die Antikörper bzw. Agglutinine zum großen Teil so fest an die Bakterien binden, daß man an eine chemische Bindung denken muß. Selbst A r r h e n i u s ¹⁾, der wie E i s e n b e r g ²⁾ die Aufnahme der Agglutinine in die Bakterien als einen „Verteilungsvorgang“ zwischen zwei Lösungsmitteln auffaßt, welcher vom G u l d b e r g - W a a g e s c h e n Gesetz des chemischen Gleichgewichts beherrscht sei und sich in eine einfache mathematische Formel³⁾ fassen lasse, läßt eine n a c h t r ä g l i c h e chemische Bindung zu. Von vornherein ist auch natürlich keine Einwendung dagegen zu erheben, daß man die Erfahrungen der „Kolloidchemie“ auf die Beziehungen der Antigene zu den Immunkörpern, die beide zu den Kolloiden gehören, anwendet⁴⁾ und die Niederschlagsbildungen der Kolloide mit den Agglutininen und Präzipitinen der Bakterien und Bakterienstoffe vergleicht (s. u. § 341). Aber gerade die Bindung der letzteren an die Agglutinine und übrigen Immunkörper hat trotz einiger Ähnlichkeiten in den quantitativen Verhältnissen etwas Besonderes an sich, nämlich die Arteigentümlichkeit, die „S p e z i f i z i t ä t“. Wir erklären sie uns am einfachsten mit bestimmten c h e m i s c h e n V e r w a n d t s c h a f t e n oder wie E h r l i c h es macht, durch das Vorhandensein von haptophoren (bindenden) Gruppen. Man wird dabei nach den früheren Feststellungen über die Trennbarkeit der Agglutininverbindungen (S. 1092) mit J o o s ⁵⁾ vermuten dürfen, daß die Verwandtschaft der zahlreichen Bindegruppen der Bakterien (S. 1094) zu den Agglutininen teils stärker, teils schwächer ist, gleichgültig ob man sich den Behauptungen dieses Forschers über die Mitbeteiligung anderer Bestandteile (Salze) an der Verbindung anschließt oder nicht (§ 340). Der Zukunft überlassen bleiben muß es, ob es gelingen wird, für die Agglutinogene ähnliche „Spektren“ zu entwerfen, wie es E h r l i c h für die giftigen Antigene getan hat (§ 264). Dazu wäre vor allem ein g e n a u e r e s S t u d i u m der Bindekraft der gelösten Agglutinogene (s. o. S. 1091), und um sie studieren zu können, ihre v o l l s t ä n d i g e Gewinnung aus den Bakterienleibern nötig. In den Bouillonfiltraten, selbst aus sehr alten Kulturen, ebenso wie in den Leiberextrakten gewinnt man immer nur einen Teil der Agglutinogene in freiem Zustande⁶⁾. Die alleinige Prüfung auf Agglutininbarkeit kann allerdings Täuschungen verursachen, weil diese, z. B. durch Erhitzung, verloren gehen, die Bindekraft erhalten bleiben kann (§ 341). Man wird daher, um die

1) Zeitschr. physikal. Chem. 46, 1904.

2) Zentr. Bakt. 34.

3) Einwendungen gegen diese Formel s. bei N e i ß e r, Zentr. Bakt. 36, 1904.

4) Vgl. S. 892 und die Lit. daselbst.

5) Zeitschr. f. Hyg. 36 und 40.

6) Vgl. E i s e n b e r g und V o l k im Gegensatz zu M a l v o z und N i c o l l e. S. die ähnlichen Verhältnisse bei den Angriffstoffen S. 1029.

Agglutinogene in Freiheit zu setzen, nur die Methoden anwenden dürfen, bei denen die Bakterienleiber vollständig und ohne Benutzung von Chemikalien oder höherer Temperatur aufgelöst werden. Nebenbei bemerkt würde an derartigen Lösungen vielleicht auch die Frage entschieden werden können, ob die homologen und heterologen Nebenagglutinine (S. 1090/1) Seitenketten an demselben Kern sind wie die Hauptagglutinine oder besondere Stoffe.

§ 340. Veränderungen des Bindungsvermögens der Agglutinogene. Das Bindungsvermögen der Agglutinogene scheint im allgemeinen gegen künstliche Eingriffe eher noch widerstandsfähiger zu sein als das immunisierende (vgl. aber S. 1058).

So gelang es Scheller (S. 1086), die nach Joos Vorgang hergestellten α - und β -Agglutinine sowohl durch unerhitzte als durch erhitzte Typhusbazillen zu absorbieren. Gekochte Bazillen erwiesen sich sogar mit stärkerem Bindungsvermögen begabt als die anderen. Letzteres kann freilich nicht regelmäßig sein, denn nach Eisenberg und Volk schädigt die Erhitzung, wenn sie über 58° hinausgeht, das Bindungsvermögen der Typhusbazillen (im feuchten Zustand) in ziemlich gleicher Weise, ob sie nun $65,100$ oder 144° erreicht¹⁾. Aus konzentriertem Serum wird dann von ihnen kaum die Hälfte der Agglutininmenge entzogen, als wenn sie unerhitzt sind. Bei hohen Serumverdünnungen treten die Unterschiede zurück. Behandlung mit verdünnter Salzsäure vernichtet ebensowenig das Agglutininbildungs- wie das Bindungsvermögen. Ähnliche Versuche mit gelösten Agglutinogenen fehlen, abgesehen von den schon früher erwähnten de Rossis²⁾, als Ersatz können auch nicht die mit Präzipitinogenen gemachten Erfahrungen dienen, da sie im wesentlichen nur die Fällbarkeit oder Löslichkeit in Alkohol u. dgl. betreffen.

Weit größere Unterschiede im Bindungsvermögen ergeben sich beim Vergleich verschiedener Stämme einer und deselben Bakterienart, mögen sie natürliche oder künstliche Abarten sein. Das hat sich z. B. bei Typhus-, Paratyphus-, Cholera-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen gezeigt. Die Versuche, feste Beziehungen zwischen der immunisierenden und bindenden Fähigkeit oder auch der Virulenz der einzelnen Stämme aufzustellen, sind, wie wir schon früher sahen (S. 1058, 1090), zum großen Teil gescheitert. Wenn man überhaupt von einer Regel sprechen darf, so hat sie jedenfalls viele Ausnahmen.

So wird man sich auch nicht wundern können, wenn gelegentlich³⁾ das früher von uns aufgestellte Gesetz (S. 1091), nach dem im Castel-

1) Bei den von de Rossi (s. o. S. 1089) studierten Heubazillen wird das Agglutininbindungs- und Bindungsvermögen schon bei 62° zum größten Teil zerstört (Zentr. Bakt. 40. 702, 1906).

2) Vgl. Anm. 1.

3) Posselt und Sagasser, Wien. klin. Woch. 1903; Zupnik und Posner, Prag. med. Woch. 1903; Hetsch und Lentz, Festschrift für Koch, 1904.

lanischen Versuch die sämtlichen Agglutinine durch den Stamm, der sie erzeugt hat, abgesättigt werden, durchbrochen wird und z. B. die (heterologen) Nebenagglutinine dabei nicht verschwinden. Man wird unter diesen Umständen hier wie im Falle der Toxine (§ 279) und Aggressine (§ 327) den immunkörperbindenden und immunisierenden Bestandteil des Agglutinogens nicht einfach identifizieren dürfen, sondern in der früher angegebenen Weise zu Hilfsvorstellungen greifen müssen.

§ 341. **Agglutinierbarkeit.** Mit dem Agglutininbildungs- und -bindungsvermögen sind aber noch nicht alle Eigenschaften der Agglutinogene erschöpft, denn aus ihnen folgt noch nicht ohne weiteres die Fähigkeit der Bakterien, durch die Agglutinine zu „verkleben“, zu „verklumpen“, „auszuflocken“, ihre **A g g l u t i n i e r b a r k e i t**. Die letztere Eigenschaft ist vielmehr in weitem Maße unabhängig von den ersteren.

Nachgewiesen wurde das zuerst durch **E i s e n b e r g** und **V o l k**, die beobachteten, daß (feuchte) Typhusbazillen nach halbstündigem Erhitzen auf 58° normale Bindungs- und Agglutinationsverhältnisse, aber nach Anwendung höherer Temperaturen, insbesondere von 100°, nur noch Spuren, nach solchen von 144° überhaupt keine Agglutinierbarkeit mehr zeigen, während ihr Bindungsvermögen durch Temperaturen über 58° gleichmäßig und lange nicht in demselben Grade geschädigt wird. Bei Cholera-bazillen wurde freilich selbst durch Erhitzung auf 170° weder Bindungswert noch Agglutinierbarkeit erheblich herabgesetzt¹⁾, dagegen büßten sie die letztere zum größten Teil — die Typhusbazillen vollständig — ein, wenn sie in 0,4—10 prozentiger Salzsäure eine Stunde bei 37° gehalten und durch nachher vorgenommene Neutralisierung von einer weitergehenden Säurewirkung geschützt wurden²⁾.

E i s e n b e r g und **F r i e d b e r g e r** unterscheiden daher am Agglutinogen eine „bindende“ und „fällbare“ Gruppe („agglutinierbare Substanz“), und schreiben der letzteren eine geringere, aber je

1) **P o r g e s** (Zeitschr. f. exper. Path. 1, 1905) fand dagegen, daß Typhus- und Cholera-bazillen zwischen 65° und 90° ihre Agglutinierbarkeit verlieren, sie aber bei 100—144° wiedergewinnen. Ein hemmender Stoff (Nuklein?), dessen Einwirkung durch konzentrierte Kochsalzlösung behoben werden kann, soll daran schuld sein; vgl. übrigens die ähnlichen Verhältnisse bei der Verdaulichkeit § 10.

2) **W a s s e r m a n n** (Zeitschr. f. Hyg. 42) bestätigt diesen Befund. Nach **W e i l** liegt das Optimum der Agglutinierbarkeit für Typhusbazillen bei 52—55°, bei 65° wird sie aufgehoben. Außer Cholera-bazillen vertragen auch Staphylokokken selbst das Erhitzen auf 100° (Zentr. Bakt. 36 u. 37). Vgl. auch **d e R o s s i**s Heubazillen S. 1089. Bei diesen besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen Agglutinierbarkeit und dem Zustand der Geißeln. Daß die Geißeln selbst bei der Agglutination unverändert bleiben, zeigten **d e R o s s i** (Zentr. Bakt. 36. 689) und **H i n t e r b e r g e r** (ebenda 45).

nach der Bakterienart wechselnde Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse zu¹⁾).

Angeregt wurden die beiden Forscher zu diesen Untersuchungen durch Angaben von Widal und Sicard, van de Velde, Malvoz und Nicolle über das Ausbleiben der Agglutination bei Bakterien, die durch Hitze oder Aufenthalt in älteren Kulturen verändert waren. Letzteres konnten Eisenberg und Volk zwar nicht bestätigen, es kann aber doch wohl in anderen Fällen zu recht bestehen.

Kälte, Formalin, Sublimat, Chloroform, Thymol u. a. m. sind nach den oben genannten Forschern ohne Einfluß auf die agglutinierbare Substanz. Jedoch hat Selter in meinem Laboratorium gefunden, daß Formalinzusatz zu Typhusbazillenkulturen — in Form des Fickerschen „Typhusdiagnostikums“ — doch deren Agglutinierbarkeit in gewissem Grade beeinträchtigt. In konzentrierten Gaben und bei längerer Einwirkung werden wohl alle Antiseptika die agglutinierbare Substanz nicht unberührt lassen. Daß der Alkohol sogar die immunisierende Fähigkeit der Agglutinogene unter diesen Umständen zerstört, haben wir schon früher mitgeteilt (S. 1088). Nach Nicolle soll allerdings Alkohol und Äther die „substance agglutinée“ nicht schädigen, aber er arbeitete in der Weise, daß er trockene Bakterien mit diesem Stoffe 2 Tage lang auszog und den eingedunsteten Extrakt in Bouillon aufgelöst mit agglutinierendem Serum versetzte und auf Niederschlagsbildung prüfte. Die letztere kann übrigens nur dann auf das Vorhandensein agglutinierbarer Substanz bezogen werden, wenn man diese der „präzipitierbaren“ Substanz gleichsetzt. Vieles spricht allerdings dafür (s. u. §. 342). Auch nach Pick, Kraus und v. Pirquet enthält die präzipitierbare Substanz alkohollösliche Bestandteile.

Vieldeutig erscheint zunächst die von Bordet²⁾ zuerst festgestellte und dann von Nolf, Joos, Friedberger³⁾, Eisenberg und Volk, Porges⁴⁾ studierte Einwirkung der Salze und anderer kristallisierbarer Körper (wie Zucker, Leuzin) auf die Agglutination. Völliger Mangel derartiger Stoffe in der Aufschwemmung verhindert sie, Zusatz selbst kleiner Mengen ruft sie wieder hervor, höhere Konzentrationen hemmen oder verhindern sie ebenfalls, ohne daß aber eine nachträgliche Verdünnung die Hemmung beseitigte. Man hat sich diese Wirkungen verschieden erklärt. Nach Joos und Porges ist eine gewisse Menge Salz insofern nötig zur Agglutination,

1) Agglutinogene ohne agglutinierbare Gruppe würde man am besten Agglutigenoid nennen, wenn das Wort nicht zu fürchterlich klänge. Agglutinoid, das Kraus vorschlägt, ist schon vergeben an die Abart des Agglutinins, die eine bindende, aber keine agglutinierende Gruppe besitzt. Eine weitere Verwicklung besteht darin, daß die bindenden Bestandteile der Agglutinogene, wie wir oben gesehen, nicht völlig zusammenfallen mit den agglutinin erzeugenden. Wir haben hier wieder in gewissem Sinne ähnliche Verhältnisse wie bei den Agressinen bzw. Lysinogenen (§ 327).

2) Annal. Pasteur 1899.

3) Zentr. Bakt. 30, 1901.

4) Ebenda 40, 1903.

im Tierblut ganz anders aus wie in Bouillon; hier wachsen lange Fäden ohne Scheide, dort kurze Stäbchenkettchen mit Kapseln; der Essigbazillus bildet üppige Decken auf saurem Bier mit zahlreichen wunderbaren Involutionsformen, in unseren künstlichen Nährböden gedeiht er dagegen spärlich und meist als kurzes Stäbchen; der Prodigiosus entwickelt bei 37° keinen oder sehr wenig Farbstoff, bei mittleren Temperaturen seine prächtigen scharlachroten Rasen. Es sind dies die *Standorts- oder Ernährungsmodifikationen* Nägeli's, die zwar auch bei den Mikroben regelmäßig dem ursprünglichen Typus weichen, wenn die Übertragung in die passenden Lebensbedingungen rechtzeitig erfolgt, die aber bei fortgesetzter Züchtung unter den veränderten Bedingungen dauerhaft werden können. So verliert der Milzbrandbazillus häufig genug durch künstliche Kultur die Fähigkeit, in charakteristischer Weise oder überhaupt im Tierkörper zu wachsen, d. h. er wird weniger virulent, so büßt der Prodigiosus bei 37° schließlich sein Pigmentierungsvermögen völlig ein. Man kann hier zwei Arten von Einwirkungen unterscheiden. Sind die neuen Lebensbedingungen der Entwicklung der Keime an sich nicht ungünstig, so vollzieht sich allmählich eine *Anpassung* an dieselben, die unter Umständen, aber nicht immer eine Rückkehr zur alten Lebensweise erschwert oder unmöglich macht. So gewinnt der virulente Pneumokokkus durch Züchtung in künstlichen Nährböden in seiner *Wachstumskraft* auch dann, wenn er seine *Infektiosität* verliert. So verstärkt der menschenpathogene Streptokokkus durch fortgesetzte Übertragung auf Mäuse zwar seine Virulenz für diese und oft auch für andere Tierarten, verliert aber seine Infektiosität für den Menschen. Wirken umgekehrt die neuen Lebensbedingungen wachstumshemmend oder offensichtlich schädigend, so spielt bei der Abänderung die *Entartung* des *Protoplasmas* wieder eine Rolle. Daß dem wirklich so ist, dafür sprechen außer dem unmittelbaren Augenschein auch die Erfahrungen, die z. B. beim Milzbrandbazillus bei Züchtung in höheren Temperaturen gemacht worden sind (s. u. Dieudonné § 352). Je nachdem man die höheren Temperaturen allmählich oder plötzlich einwirken läßt, erhält man Entartung mit Virulenzabschwächung oder Anpassung ohne Abschwächung.

Wir kommen damit auf die absichtliche Hervorrufung von Abänderungen durch *Einwirkungschädlicher Einflüsse*, wie hohe Temperaturen, der trockene Zustand, desinfizierende Mittel sie ausüben. Seitdem namentlich Pasteur dieses Verfahren angewandt hat, um Virulenzabschwächung zu bewirken, hat man es vielfach benutzt, um den Verlust dieser oder jener Eigenschaft bei

Kleinwesen künstlich herbeizuführen. Bald handelt es sich um kurzdauernde Einwirkung stärkerer oder länger dauernde schwächerer Mittel. Der Erfolg — auch was die Beständigkeit der Umwandlung anlangt — ist je nach der Art der Kleinwesen und der betreffenden Eigenschaften sehr ungleich. Am leichtesten ist auf diese Weise anscheinend die Virulenz zu beeinflussen. Selbst Sporen verfallen der Abänderung, wenn sie auch naturgemäß widerstandsfähiger sind als vegetative Formen.

Man muß es sich deswegen zur Regel machen, da, wo man mit schwachen Mitteln auszukommen sucht, die Kulturen so häufig überzuimpfen, daß überhaupt keine Sporen gebildet werden. Bei P a s t e u r s Abschwächungsmethode für Milzbrand (bei 42—43°) wird deshalb täglich auf neue Bouillon übertragen. Umgekehrt ist die Überimpfung auf 80° erhitzten, d. h. nur sporenhaltigen Materials ein gutes Verfahren, um die Beständigkeit der Merkmale in künstlichen Kulturen von Anaërobiern zu gewährleisten, weil die Sporen zu Abänderungen durch den Einfluß der eigenen Stoffwechselprodukte weniger neigen (B r e d e m a n n s. u.).

Manchmal wird ein Erfolg der Behandlung mit schädigenden Mitteln, ebenso wie bei der Verwendung alter Kulturen nur dadurch vorgetäuscht, daß die Schädlichkeit die Z a h l der lebenden Keime und dadurch deren Leistung herabsetzt oder aber nur die individuellen Fähigkeiten beeinträchtigt. Die Prüfung des auf passenden Nährboden übertragenen Materials zeigt dann, daß die Abänderung überhaupt nicht vererbt wird. Ob das eine oder andere geschieht, ob die Vererbung nur für wenige oder viele Generationen gilt, immer hat man ein Recht, die Abänderung als eine mehr oder weniger tiefgreifende Entartung aufzufassen. Ausnahmsweise wird freilich nach Einwirkung einer Schädlichkeit die Eigenschaft, die man zu beeinflussen sucht, nicht abgeschwächt, sondern verstärkt. Einige derartige Fälle, die die Virulenz betreffen, haben wir schon S. 1086 erwähnt, und die Erklärung darin gefunden, daß gelegentlich Widerstandskraft gegen äußere Schädlichkeiten und das Angriffsvermögen im Tierkörper miteinander parallel gehen. Durch die Erhitzung, Trocknung u. dgl. werden also nur die weniger tüchtigen Individuen ausgeschaltet, die tüchtigen aber nicht geschädigt. Die Entartung bleibt ebenfalls aus, wenn, wie in den obigen Beispielen beim Milzbrand die schädigenden Einflüsse so allmählich zur Wirksamkeit gelangen, daß die Mikroben sich ihnen anzupassen lernen.

Den Entartungsformen stehen jedenfalls sehr nahe diejenigen morphologischen Veränderungen, die man seit lange als „Involutionsformen“ zu bezeichnen pflegt, mit M a a ß e n aber auch als „teratologische Wuchsformen“ bezeichnen könnte. Auf die Bedingungen ihrer Entstehung und ihrer Vererbungsfähigkeit kommen wir gleich zurück.

Welche der hier besprochenen durch den Versuch im Laboratorium nachgewiesenen Möglichkeiten die Abänderung unter natürlichen Bedingungen, die Bildung natürlicher Varie-

täten (§ 357) herbeiführen, muß dahingestellt bleiben. Selbstverständlich kommen hier auch die freiwilligen Abänderungen (s. o.) in Betracht. Sehr wahrscheinlich ist es, daß für die Entstehung der Abarten und Arten bei den Mikroben der Einfluß der Isolierung eine ähnliche Bedeutung hat wie bei den höheren Organismen (s. u.).

Im folgenden sollen die Abänderungen besprochen werden, welche die einzelnen Eigenschaften der Mikroben erfahren¹⁾. Wir können dabei freilich nicht alle in der Literatur niedergelegten Beobachtungen berücksichtigen, weil sie oft nicht genügend gesichert sind. Das betrifft namentlich die Angaben über Umzüchtungen von bestimmten pathogenen Bakterien (Typhus, Milzbrand) in bestimmte nichtpathogene (Coli, Heubazillen) und umgekehrt. Wenn sie früher am einfachsten durch mangelhafte Technik zu erklären waren, so hat sich im Lauf der Zeit herausgestellt, daß selbst das lange für unfehlbar gehaltene Plattenverfahren nicht dieses unbedingte Vertrauen verdient, weil es nicht immer die Trennung der Keime, die Reinkultur gewährleistet. Wohl in jedem Laboratorium sind derartige Beobachtungen gemacht worden, die dafür sprechen, daß namentlich die Kolonien der ersten Platten-generation noch zum Teil Mischkolonien sein können. Die Benutzung sogenannter elektiver Nährböden scheint die Entstehung solcher zu begünstigen.

So ist es ganz gewöhnlich, daß Diphtheriebazillen, die von Löfflerserumplatten isoliert werden, sich nachträglich — aber durchaus nicht stets schon bei der zweiten oder dritten Übertragung — mit Strepto- oder Pneumokokken vermengt zeigen. Überall da, wo das zu untersuchende Material eine schlecht wachsende Bakterienart in überwiegender Menge neben einer gutwachsenden Art enthält, sind die Reinkulturen der letzteren verdächtig, mit den ersteren verunreinigt zu sein. Unseres Erachtens hat das Übersehen dieser Tatsachen so lange die scharfe Trennung der Hüppeschen Milchsäurebakterien, die der Aërogenesgruppe angehören, von den echten Milchsäurekeimen, die Streptokokken sind (S. 285 ff.), gehindert. Auf ebensolche Beimischungen zurückzuführen ist aller Wahrscheinlichkeit nach die „Umzüchtung“ des *Bac. alcaligenes* in Typhusbazillen, die Altschüler²⁾ und Döbert³⁾ bewerkstelligt haben wollen (Berghaus⁴⁾, Conradi⁵⁾, Boit⁶⁾).

1) Vgl. Kruse „Variabilität“ in Flüggés Mikroorganism. 3. Aufl. 1. 475, 1896. Auch E. Gotschlich in Kolle-Wassermanns Handb. 1. 123, 1903 und Erg.-Bd. 2. 22, 1907.

2) Münch. med. Woch. 1904. 20.

3) Arch. f. Hyg. 52, 1905.

4) Hyg. Rundschau 1905. 15 und 23.

5) Münch. med. Woch. 1905. 38.

6) Einf. u. sich. Identifik. der Typhusbaz. Jena 1905.

Trommsdorf¹⁾, Terburgh²⁾, Gaethgens³⁾). Ebenso ist die Überführung des Dysenteriebazillus in den Pseudodysenteriebazillus durch Shiga⁴⁾ zu beurteilen (Lentz⁵⁾, Kruse). Für mich besteht kein Zweifel, daß auch die merkwürdigen Angaben Dunbars⁶⁾ über Züchtung von allen möglichen Bakterien und Pilzen aus grünen Algen auf ähnlichen Fehlerquellen beruhen, obwohl der Verfasser sich viele Mühe gegeben hat, solche auszuschalten. So sehr ich überzeugt bin, daß wir in der Mikrobiologie noch manche Überraschungen erleben werden, so sehr muß doch verlangt werden, daß so umstürzende Neuerungen besser gegen die Kritik geschützt werden, ehe sie den Anspruch erheben dürfen, als Entdeckungen anerkannt zu werden.

Was die Variabilität der Buttersäure- bzw. Rauschbrandbazillen angeht, so ist das letzte Wort über den Grad derselben noch nicht gesprochen. Während Graßberger und Schattenfroh (und auch Bredemann) an diesen Bakterien die bedeutendsten morphologischen und physiologischen Abänderungen vor sich gehen lassen, ist v. Hübner nicht geneigt, so weit zu gehen, sondern erklärt sie mindestens zum Teil durch Versuchsfehler, d. h. durch Verunreinigungen des Ausgangsmaterials mit fremden Anaëroben (§ 113).

§ 346. Form und Größe. Allgemein anerkannt ist heutzutage, daß Größe und Form der Mikroben nicht unerheblichen Abweichungen unterliegen, die teils als „individuelle“ unter den gewöhnlichen Bedingungen erscheinen, teils als „Ernährungsmodifikationen“ oder „Entartungsformen“ bei Veränderungen der äußeren Lebensbedingungen auftreten (s. o. § 345). Ebenso ist bewiesen, daß in nicht wenigen Fällen diese Abänderungen erblich werden können.

So haben Kruse und Pansini⁷⁾ Pneumoniekokken, die vom Tier gewonnen in Form lanzettförmiger Kokken wuchsen, durch mehr als 100 Übertragungen auf künstliche Nährboden in Streptokokken umgewandelt, die sich von Eiterstreptokokken morphologisch nicht unterscheiden ließen und diesen Charakter bewahrten. Andere Male gelangten sie schon viel früher zu demselben Ergebnis, in einigen Fällen blieben die Versuche vergeblich, oder die erhaltenen Abänderungen waren nicht beständig. Bei dieser Gelegenheit trat die Wahrheit des Satzes, daß die Neigung zu variieren selbst bei Bakterien derselben Art außerordentlichen Schwankungen unterliegt, recht deutlich zutage. Von anderen Abweichungen, z. B. dem Auftreten bazillärer Formen, sprechen wir hier erst, wenn wir die natürlichen Abarten der Pneumoniekokken und anderer Mikroben behandeln (s. u. § 357). Bei pyogenen Streptokokken

1) Münch. med. Woch. 1905. 35.

2) Zentr. Bakt. 40, 1905.

3) Arch. f. Hyg. 62.

4) Zeitschr. f. Hyg. 41.

5) Ebenda 43, 1903.

6) Zur Frage der Stellung der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze im System 1907.

7) Zeitschr. f. Hyg. 11, 1891.

kommen auch manchmal Abänderungen vor (P a s q u a l e ¹⁾). Neuerdings behauptet sogar S c h e r e s c h e w s k y ²⁾, der Streptococcus pyogenes verwandele sich in Blutnährböden in Pneumokokken (?). Was sporenbildende Bakterien anlangt, so ist bekannt, daß freiwillig und namentlich nach P a s t e u r s Methode abgeschwächte Milzbrandbazillen auch in ihrem äußeren Ansehen von virulenten Bazillen abzuweichen pflegen. Selbst Sporen unterliegen, wenn auch langsamer, schädigenden Einflüssen. So sah S c a g l i o s i ³⁾ Milzbrandsporen nach 10 Jahre langer Aufbewahrung in trockenem Zustande nur kümmerlich und nicht mehr in Fäden wachsen.

Viel größer als die Veränderlichkeit der aëroben scheint die der streng anaëroben Sporenbildner, insbesondere aus der Gruppe der Buttersäurebakterien zu sein. G r a ß b e r g e r und S c h a t t e n f r o h stellten, wie wir schon sahen (§ 113), zwei Typen, die des beweglichen mit schlanken und des unbeweglichen Buttersäurebazillus mit plumpen Formen auf, die sich mehr oder weniger schwer ineinander überführen lassen. Dasselbe wie für die nichtpathogenen gilt für die pathogenen Anaërobier, die R a u s c h b r a n d -, G a s b r a n d - und vielleicht auch für die T e t a n u s b a z i l l e n (s. u. Sporen § 347). Sehr merkwürdig ist die Angabe mehrerer Forscher, vor allem B r e d e m a n n s, daß der Bac. amylobacter unter Bedingungen, die noch nicht vollständig festgestellt sind, kokkoiden Elemente, „Mikrooidien“, bilde, die sich auch in vielen anderen Beziehungen — Sporenbildung, Sauerstoffbedürfnis, Gärvermögen — von den typischen Buttersäurebazillen unterscheiden, und übrigens viele Generationen hindurch als solche fortpflanzen lassen sollen (S. 355).

Unter den nicht sporenbildenden Bazillen sind es die „Pigmentbakterien“, der P y o c y a n e u s und P r o d i g i o s u s, deren Veränderlichkeit am frühesten festgestellt wurde (§ 3). G u i g n a r d und C h a r r i n, W a s s e r z u g, K ü b l e r und Verfasser fanden ziemlich übereinstimmend, daß man durch wachstumshemmende Zusätze (Borsäure, Kaliumbichromat, Weinsäure usw.) die Form dieser Bakterien in der Weise verändern kann, daß sie statt kurzer lange, oft verdickte und gewundene und dadurch spirillenähnliche Stäbchen und Fäden bilden. Offenbar ist das Ausbleiben der Teilungen trotz Fortschreitens des Wachstums daran schuld. Durch systematische Züchtung gelingt es manchmal, diese Abänderungen dauerhaft zu machen, so daß sie bei Übertragungen auf die üblichen Nährböden nicht mehr verschwinden. Wahrscheinlich sind auch manche andere Bakterien in ähnlicher Weise zu beeinflussen. Mindestens ist das Vorkommen von ähnlich gebildeten oder mehr rundlich oder spindelartig oder auch ganz unregelmäßig gestalteten, z. B. geweihartig verzweigten „Riesenformen“ bei sehr zahlreichen Bazillen und Spirillen, gelegentlich auch bei Kokken (Streptokokken s. o.) beobachtet worden, zunächst in alten Kulturen, dann bei gewissen Arten wie den Essigbakterien bei bestimmten Temperaturen (H a n s e n) oder, wie bei Pest-, Rotz-, Diphtherie-, Leucht-, Meeresbakterien auf einzelnen Nährböden. Unter dem Namen der

1) Zieglers Beitr. 12. 499, 1892.

2) Zentr. Bakt. 49. 72, 1909.

unregelmäßigen Bildungen, Involutionsformen (Nägeli) oder teralogischen Wuchsformen (Maaßen), der Heteromorphosen, haben wir sie schon früher erwähnt (§ 3) und an der Hand der Arbeiten von Gamaleia, Maaßen, Hammerl¹⁾ u. a. den maßgebenden Einfluß erörtert, den neben der Stammesanlage der Salzgehalt der Nährböden auf die Entstehung derselben ausübt. Nur Maaßen scheint allerdings auf die uns hier wesentlich interessierende Frage eingegangen zu sein, ob sich diese Formen vererben. Er verneint das, ja kommt umgekehrt zu dem Schluß, daß sich eher eine Anpassung an den salzhaltigen Nährboden bemerkbar mache, indem bei fortgesetzter Übertragung die Zahl der Riesenformen zurückgehe. Auch Hammerl neigt dazu, weil er beobachtete, daß aus den Kulturen der Cholera bazillen die kugeligen Involutionsformen, die sich unter dem Einfluß der Salze zuerst massenhaft gebildet hatten, fast vollständig verschwanden und normalen Kommaformen und Spirillen Platz machten. Die Verhandlungen über diese Frage sind offenbar noch nicht geschlossen. Sicher ist eine vererbare Veränderlichkeit nachgewiesen für die Bakterien der Aërogenesgruppe, namentlich durch die unter meinen Augen ausgeführten Untersuchungen von Wilde²⁾. Entsprechend der Wandlung, welche Kolonien- und Schleimbildung bei diesen Bakterien durchmachen (s. u. § 351), vollziehen sich morphologische Veränderungen in der Weise, daß die ursprünglich fast kugligen, plumpen und dicken Stäbchen kleiner und schlanker werden. Schließlich wird die Abänderung beständig. So erklärt es sich wohl, daß die offenbar lange fortgezüchteten Stämme dieser Gruppe, die ich in meinem Königsberger Laboratorium vorfand, bei der mikroskopischen Prüfung gar keine Ähnlichkeit mit dem ursprünglichen Typus zeigten, sondern durchaus „Colibazillen“ glichen. Auch bei den Ruhrbazillen, die ich jahrelang fortgezüchtet habe, konnte ich hin und wieder ähnliche Veränderungen beobachten. Bei der Coli-Typhusgruppe, die die bewegliche Formen umfaßt, liegen die Verhältnisse anscheinend auch nicht viel anders. Wie die einzelnen Individuen einer und derselben Kultur bald plump, bald schlank sind, so gibt es Arten und Abarten, die vorwiegend diese oder jene Form zeigen. Barber³⁾ hat, wie wir schon früher erwähnt (S. 1125), für Typhus- und Colibazillen nachgewiesen, daß man unmittelbar durch Auswahl schlanker Individuen unter dem Mikroskop Rassen mit denselben Eigenschaften erhalten kann. Über Abänderungen der Pest-, Diphtherie- und Tuberkelbazillen⁴⁾ wird bei den natürlichen Varietäten zu reden sein (§ 357). Die letzteren beiden zeichnen sich zum Teil schon in den gewöhnlichen Nährböden durch Verzweigungen (s. o.) aus. Daß die Neigung zu Verzweigungen in gewissem Grade erblich ist, beobachtete auch Le-

1) Zentr. Bakt. 41 und 42, 1906.

2) Bonner mediz. Dissertation 1896.

3) Kansas University Science Bull. 1907. 4, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 222.

4) Über die Verwandlung der säurefesten bazillären Form der Tuberkelbazillen in die gramfeste körnige s. Much S. 13.

peschkin¹⁾ bei einem „Bac. Berestnevi“, der offenbar einen Übergang zu den Strahlenpilzen bildet. Denn die Nachkommen verzweigter Individuen wiesen viel häufiger diese Merkmale auf, als die von unverzweigten.

Während man unmittelbar nach der Entdeckung des Cholera-vibrio großen Wert auf die bestimmte Form und Größe desselben legte und glaubte, ihn schon dadurch von ähnlichen Vibrionen trennen zu können, wies zunächst Firtsch²⁾ am Spirillum Finkler-Prior („Vibrio Proteus“) nach, daß er sich in morphologische Abarten von mehr oder minder großer Beständigkeit spalten läßt. Dasselbe gelang mir³⁾ beim Choleravibrio. Nach längerem Aufenthalt in Brunnenwasser wurden aus ihm zwei dauerhafte Varietäten herausgezüchtet, von denen die eine regelmäßig plumpe, die andere lange, schlanke Kommas bildete. Später isolierte ich ähnliche Spielarten aus sehr alten Cholerakulturen, deren Zurückführung auf den alten Typus erst mittelst zahlreicher Übertragungen auf Meerschweinchen glückte (vgl. Metschnikoff⁴⁾). Gewöhnlich sind die atypischen Formen weniger beständig (Friedrich⁵⁾).

Aus einer Hefekultur konnte Barber ebenso wie beim Typhus (s. o.) durch mikroskopische Isolierung eine Abart mit gestreckten Zellen züchten. Eine ähnliche, aber nicht dauerhafte Abänderung hatte Hansen schon früher in Gelatineplatten beobachtet.

Der Polymorphismus und Generationswechsel vieler Protozoen, z. B. der menschlichen und tierischen Malaria-parasiten, gehört nicht zu den Veränderungen, die wir hier besprechen wollen, weil er nur der regelmäßigen Entwicklung dieser Parasiten entspricht (S. 1122). Wohl würde aber eine Veränderlichkeit in unserem Sinne vorliegen, wenn die einzelnen Arten oder Abarten der Malariaerreger wirklich imstande wären, ineinander überzugehen. Das ist in der ersten Zeit nach ihrer Entdeckung vielfach behauptet, aber ebensooft und mit guten Gründen bestritten worden. In der Tat liegt es näher, die betreffende Tatsache durch Mischinfektion z. B. mit den Tertian- und Quartan-, bzw. Tropikaparasiten zu erklären. Immerhin gibt es Fälle, in denen diese Deutung recht gezwungen erscheint⁶⁾

§ 347. Sporen. Zur Sporenbildung ist außer gewissen äußeren Voraussetzungen, wie Temperatur, Sauerstoffzutritt, Erschöpfung der Nährböden usw. (§ 38), noch eine innere Anlage des Bakterienleibes bzw. Pilzleibes vonnöten, die nur einer beschränkten Zahl von Arten zukommt. Die Erfahrung hat gelehrt, daß alle diejenigen Mittel, die geeignet sind, die Entwicklung von Sporen zu stören, auch zum erblichen Verlust des Sporenbildungsvermögens führen. Rückschläge

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 641, 1904.

2) Arch. f. Hyg. 8.

3) Kruse, Zeitschr. f. Hyg. 17. 36.

4) Annal. Pasteur 1894. 5 und 8.

5) Arb. K. Gesundheitsamts 8.

6) Vgl. z. B. A. Plehn, Deutsch. med. Woch. 1907. 30.

sind sehr oft möglich und lassen sich durch die umgekehrte Behandlung befördern.

Den Verlust der Sporen bedingt z. B. die Züchtung bei zu hohen (42°) und bei zu niederen Temperaturen, oft genügt schon andauernde Kultur in Gelatinestich oder mit Zusätzen von wachstumshemmenden Stoffen (Kaliumbichromat, Karbol, Sublimat), ja schon von Glycerin und Traubenzucker in der üblichen Menge (Selter). Die Versuche sind meist am Milzbrandbazillus angestellt worden (Chamberland und Roux¹⁾, Roux²⁾, K. B. Lehmann³⁾, Behring⁴⁾, Phisalix⁵⁾); aber auch andere Aërobier, z. B. Heubazillen, verfallen den gleichen Einflüssen (Selter⁶⁾, Garbowski⁷⁾), während die Verhältnisse bei Anaërobiern, mindestens was die Einwirkung der letztgenannten Nährstoffe anlangt, verwickelter zu liegen scheinen⁸⁾. Systematische Versuche, den Anaërobiern das Sporenbildungsvermögen zu nehmen, liegen bisher kaum vor. Man kann vorläufig aber doch nach eigenen und fremden Erfahrungen sagen, daß auch Anaërobierstämme derselben Art oft eine recht ungleiche Neigung zur Sporenbildung zeigen, d. h. das Sporenbildungsvermögen zum Teil oder ganz einbüßen und ebenso wiedergewinnen können; auch über die Bedingungen, unter denen das eine oder andere geschieht, haben wir einige, freilich nur grob empirische Kenntnisse. Nach Graßberger und Schattenfroh (S. 353 u. 357) gibt es „denaturierbare“ Buttersäurebakterien, d. h. solche, die namentlich bei Übertragung auf feste zuckerhaltige Nährböden neben einer Änderung ihrer Form (s. o. § 346), neben dem Verlust ihrer Beweglichkeit (§ 348) auch einen Verlust ihrer Fähigkeit zur Sporenbildung erleiden, und andererseits solche, die nicht denaturierbar sind („bewegliche Buttersäurebazillen“). Auf alkalischem Stärkekleisteragar gelang es ihnen⁹⁾, den „unbeweglichen Buttersäurebazillus“, ebenso wie Albrecht¹⁰⁾ den unbeweglichen und sporenlösen Gasphlegmonebazillus wieder zu kräftiger Versporung anzuregen. Auch reine Eiweißnährböden erwiesen sich übrigens dazu als brauchbar¹¹⁾. Bredemann¹²⁾ ist der Ansicht (vgl. S. 355), daß die Unterscheidung zwischen denaturierbaren und nicht denaturierbaren Buttersäurebazillen nicht aufrecht zu erhalten ist, weil er selbst

1) Compt. rend. ac. sc. 96. 1090.

2) Annal. Pasteur 1890.

3) Münchn. med. Woch. 1887. 25.

4) Zeitschr. f. Hyg. 6. 125 und 7. 181.

5) Bull. méd. 1892. 25.

6) Zentr. Bakt. 37, 1904.

7) Ebenda 2. Abt. 19 und 20.

8) Vgl. über die Bedingungen der Sporenbildung namentlich v. Hibler, Untersuchungen über pathogene Anaëroben 1908. S. 185 ff.

9) Arch. f. Hyg. 37.

10) Arch. f. klin. Chir. 67, 1902.

11) Passini, Wien. klin. Woch. 1906. 627; Graßberger und Schattenfroh, Arch. f. Hyg. 60, 1907 und v. Hibler a. a. O.

12) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 405.

Kulturen des „beweglichen Buttersäurebazillus“ in der Hand gehabt hat, die unbeweglich waren und keine Sporen bildeten. In diesen Fällen glückte es ihm, auf mit Kreide eingeriebenen Kartoffeln die Sporenbildung wieder hervorzurufen. Auf gewöhnlichem Traubenzuckeragar lassen sich dann diese wie andere Stämme leicht weiterzüchten, jedoch nur dann mit Erhaltung des Sporenbildungsvermögens, wenn man die Sporen allein überimpft, d. h. das Impfmateriel regelmäßig vorher 5 Minuten auf 80° erhitzt (S. 1127). Mit Hilfe mikroskopischer Auslese ist es Barber (S. 1131) gelungen, bei *Bac. megatherium* eine sporenlose Abart zu züchten. Er schließt daraus wohl nicht ganz mit Recht auf die maßgebende Bedeutung der Mutation. Auch Preisz¹⁾ isolierte aus einer und derselben Milzbrandkultur neben Bazillen, die leicht Sporen bildeten, solche, die es nicht taten.

Wenn die Neigung zur Bildung von Sporen variabel ist, so ist die Größe, Stellung und Form der Sporen²⁾, die Art ihrer Auskeimung³⁾, ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten⁴⁾ wahrscheinlich ebenso veränderlich. Dafür sprechen die Schwankungen, die in allen diesen Beziehungen bei den einzelnen Individuen derselben Kultur beobachtet werden, sowie die Erfahrungen, die man an verschiedenen Stämmen derselben Art gemacht hat (s. u. natürliche Varietäten § 357). Das schließt nicht aus, daß die Abweichungen geringer werden, wenn man die Stämme längere Zeit unter gleichen Bedingungen züchtet und dann vergleicht, wie es Bredemann getan hat.

Daß sporenbildende Hefezellen (*Saccharomyces*) die Fähigkeit, Sporen zu bilden, dauernd verlieren können, ist eine alte Erfahrung. So erwähnt Hansen⁵⁾ eine Abart des *S. Pastorianus* I, die schon 12 Jahre lang diese Eigenschaft beibehalten habe. Ja, nach demselben Forscher läßt sich gerade diese Abänderung sicherer beherrschen als die anderer Eigenschaften.

Die genannte Varietät wurde erhalten durch Züchtung in Bierwürze bei einer Temperatur, die höher war als das Temperaturmaximum für die Sporenbildung. Andere ähnliche Spielarten entstanden aber anscheinend freiwillig (*S. Ludwigii*, Marxianus⁶⁾, *Schizosaccharomyces octosporus*⁷⁾), waren allerdings nicht ebenso beständig, ließen sich z. B. in sporenbildende zurückverwandeln durch Übergang von Bierwürze zu Traubenzuckernährböden oder durch trockene Hitze, die die vegetativen Formen vernichtete und die noch vereinzelt gebildete Sporen übrig ließ.

1) Zentr. Bakt. 35. 6.

2) Vgl. hier v. Hibler, Bredemann a. a. O.

3) Ebenda und Caspari, Arch. f. Hyg. 42, 1902.

4) Compt. rend. trav. labor. Carlsburg 511, 1900; ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 199.

5) Vgl. Anm. 4.

6) S. bei Klöcker, Gärungsorganismen 1900, S. 194.

7) Beijerinck, Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 637, 1898.

§ 348. **Beweglichkeit.** Mehr oder minder vollständiger Verlust der Beweglichkeit¹⁾ wird nach unseren eigenen Erfahrungen gar nicht selten an Laboratoriumskulturen, z. B. von Typhus, Cholera beobachtet. Besonders berichten über unbewegliche Stämme des *Micrococcus agilis* und der *Sarcina mobilis* L e h m a n n und N e u m a n n, des Typhusbazillus S t e p h e n s ²⁾, des Colibazillus V i l l i n g e r ³⁾ und B a r b e r (S. 1131), des Choleravibrio B o n h o f f ⁴⁾. Teils handelt es sich um Abänderungen, die offenbar im Laufe der künstlichen Züchtung aus den älteren Nährböden aufgetreten sind, teils um Entartungsformen, die durch Kultur in karbolhaltiger Bouillon bei 42° (V i l l i n g e r) erhalten, teils um Rassen, die durch mikroskopische Auslese (B a r b e r) gewonnen wurden.

Aber auch der umgekehrte Fall, das Auftreten von Beweglichkeit bei sonst unbeweglichen Bakterien, ist beschrieben worden. Wir können allerdings vorläufig noch nicht glauben, daß die auffallende Behauptung von A. M e y e r ⁵⁾ und E l l i s ⁶⁾, alle K o k k e n und B a z i l l e n seien mit G e i ß e l n ausgestattet und b e w e g l i c h, den Tatsachen entspreche, aber kaum einen Zweifel läßt zu die Beobachtung von Z i e r l e r ⁷⁾, L e h m a n n und N e u m a n n, nach der der Bac. implexus, der sich jahrelang unbeweglich gezeigt habe, später lebhaft beweglich geworden sei. Es liegt freilich hier der Gedanke an einen R ü c k s c h l a g nahe genug. Ausgeschlossen scheint ein solcher dagegen nach unseren bisherigen Kenntnissen beim Ruhrbazillus, von dem ein Stamm nach M ü h l m a n n ⁸⁾ in stark alkalischer Bouillon fortgezüchtet, zu wiederholten Malen, aber immer nur vorübergehend, eine „typhöse Beweglichkeit“ in Traubenzuckerbouillon oder Agar gezeigt haben soll. Die sogenannte Beweglichkeit der „homogenen“ Tuberkelbazillen A r l o i n g s und C o u r m o n t s ist wohl nichts anderes als Molekularbewegung⁹⁾, die ja auch sonst oft mit Eigenbewegung verwechselt worden ist.

Ob die Z a h l und namentlich die A n o r d n u n g der G e i ß e l n ebenfalls erheblichen Abänderungen unterliegt in dem Sinne, daß ein

1) Über die Beeinflussung der Beweglichkeit durch physikalische und chemische Einflüsse vgl. § 46 u. 56.

2) Ref. Bull. Pasteur 1905. 241.

3) Arch. f. Hyg. 21.

4) Arch. f. Hyg. 22. 28.

5) Zentr. Bakt. 31.

6) Ebenda 33 und ebenda 2. Abt. 9 und 11.

7) Arch. f. Hyg. 34.

8) Arch. f. Hyg. 69, 1908.

9) Vgl. C. F r ä n k e l, Hyg. Rundschau 1900. 630; R o m b e r g, Deutsch. med. Woch. 1901. 18/19.

Übergang vom monotrichen zum lophotrichen oder peritrichen Typus und umgekehrt möglich wäre, ist noch nicht ausgemacht. Im allgemeinen scheint es sich hier um recht beständige Charaktere zu handeln (§ 359).

§ 349. **Zusammensetzung des Mikrobenleibes. Mikrochemische Reaktionen.** Über die Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung der Körper der Bakterien und Pilze und ihre Abhängigkeit von dem Entwicklungszustande und der Ernährung wurde schon früher gehandelt (S. 59). Wenn wir den ungleichen Gehalt von verschiedenen Rassen derselben Art an Schleim (§ 351), ihre ungleiche Ausstattung mit fermentativen Kräften (§ 353), ihre ungleiche Widerstandsfähigkeit (§ 350) und Reaktionsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten (s. o.) bedenken, wird es wahrscheinlich, daß sie auch in ihrem chemischen Aufbau mehr oder weniger erheblich voneinander abweichen können. Mit Hilfe der groben chemischen Analyse wird das aber nur ausnahmsweise, z. B. im ersteren Fall, nachweisbar sein. Es fehlt übrigens an Untersuchungen darüber.

Hin und wieder hat man bei verschiedenen Rassen derselben Art Unterschiede in ihrem mikrochemischen Verhalten (vgl. Kap. I), namentlich in ihrer Säurefestigkeit (vgl. § 19) gefunden. So sollen Bakterien bzw. Strahlenpilze durch Züchtung in fetthaltigen Nährböden säurefest werden (B i e n s t o c k ¹⁾, G o t t s t e i n ²⁾, P o t e t, P e l l e g r i n o ³⁾) und umgekehrt Leprabazillen in künstlichen Kulturen meist ihre Säurefestigkeit verlieren (D e y c k e und R e s c h a d - B e y ⁴⁾). Gewöhnlich handelt es sich aber wohl hier um eine nicht beständige Ernährungsmodifikation (Fettnahrung?) und im Falle der Lepra wohl um Verunreinigungen, die mit den eigentlichen Erregern der Lepra nichts zu tun haben. Gerade Strahlenpilze kommen als Verunreinigungen häufiger in Betracht, als man gewöhnlich annimmt, da sie in der Luft weit verbreitet sind und zum Teil hohe Temperaturen vertragen. Die Möglichkeit der Entstehung säurefester und nicht säurefester Spielarten einer und derselben Art ist freilich von vornherein um so weniger abzuleugnen, als säurefeste Mikroben, z. B. die Tuberkelbazillen, anscheinend gewisse Stadien der Entwicklung durchlaufen, in denen sie nicht säurefest sind (vgl. M u c h u. a. S. 45, Anm. 1). Ob das bei anderen Bakterien auch für

1) Fortschr. d. Mediz. 1886. 6.

2) Ebenda 1886. 8.

3) Annali d'igiene 1906.

4) Deutsch. med. Woch. 1905. 13/14. Vgl. aber die neuesten offenbar besser gelungenen Züchtungsversuche mit Leprabazillen von K e d r o w s k y und K ü s t e r (1910).

die Gramfestigkeit (§ 18) gilt, wäre zu erwägen. Dadurch würden sich dann vielleicht manche widerstreitende Angaben in der Literatur über die Fähigkeit gewisser Bakterien, sich nach Gram zu färben, erklären lassen. Vorläufig dünkt es uns freilich wahrscheinlicher, daß diese Abweichungen durch die etwas unregelmäßigen Ergebnisse des Färbeverfahrens selbst bedingt werden. Daß die Gramfestigkeit eine Eigenschaft ist, die bei manchen Bakterienarten stärker ausgesprochen ist als bei anderen, ist sicher, ebenso, daß absterbende Formen leichter entfärbbar sind als Bakterien auf der Höhe ihrer Entwicklung.

§ 350. Widerstandsfähigkeit. Daß die einzelnen Individuen derselben Kultur, und zwar sowohl im vegetativen als im Sporenzustand, ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse, z. B. ihre eigenen Stoffwechselprodukte¹⁾, ferner künstliche antiseptische Zusätze, Erhitzung und Trocknung besitzen, ist eine alltägliche Erfahrung, ebenso daß es namentlich unter den Sporenbildnern natürliche Rassen ungleicher Widerstandsfähigkeit²⁾ gibt. Die Desinfektionspraxis muß damit rechnen. Aber auch die künstliche Heranziehung widerstandsfähiger und andererseits widerstandsloser Spielarten ist mehrfach gelungen.

Nach der lange dauernden Einwirkung höherer Temperaturen oder antiseptischer Mittel zum Zwecke der Abschwächung von Bakterien beobachtete Smirnow³⁾ regelmäßig eine größere Empfindlichkeit gegen Desinfektionsmittel. Nach Behring⁴⁾ trifft das freilich nicht immer zu (S. 1067). Garbowski⁵⁾ beobachtete eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit auch bei Sporen von Saprophyten nach Behandlung mit physikalischen und chemischen Mitteln. Findet die Einwirkung der entwicklungshemmenden Einflüsse allmählich statt, so macht sich sogar eine Anpassung geltend. Das haben Galeotti⁶⁾, Dieudonné⁷⁾ für Milzbrand- und Prodigiosusbazillen gegenüber Temperaturen von 40—42°,

1) Vgl. das allmähliche Absterben der Keime in den Kulturen § 36 u. 37.

2) Es m a r c h, Zeitschr. f. Hyg. 1, G e p p e r t, Berl. klin. Woch. 1889. 36 und 1890. 12, W e i l, Zentr. Bakt. 30, K o k u b o, ebenda 34 berichten über Milzbrandsporen, D a n n a p p e l, Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 841, 1900 über zahlreichen Sporenarten.

3) Zeitschr. f. Hyg. 4.

4) Ebenda 6.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 19 und 20.

6) Sperimentale 1892.

7) Arb. Gesundheitsamt 9.

peschkin¹⁾ bei einem „Bac. Berestnevi“, der offenbar einen Übergang zu den Strahlenpilzen bildet. Denn die Nachkommen verzweigter Individuen wiesen viel häufiger diese Merkmale auf, als die von unverzweigten.

Während man unmittelbar nach der Entdeckung des Cholera-vibrio großen Wert auf die bestimmte Form und Größe desselben legte und glaubte, ihn schon dadurch von ähnlichen Vibrionen trennen zu können, wies zunächst Firtsch²⁾ am Spirillum Finkler-Prior („Vibrio Proteus“) nach, daß er sich in morphologische Abarten von mehr oder minder großer Beständigkeit spalten läßt. Dasselbe gelang mir³⁾ beim Choleravibrio. Nach längerem Aufenthalt in Brunnenwasser wurden aus ihm zwei dauerhafte Varietäten herausgezüchtet, von denen die eine regelmäßig plumpe, die andere lange, schlanke Kommas bildete. Später isolierte ich ähnliche Spielarten aus sehr alten Cholerakulturen, deren Zurückführung auf den alten Typus erst mittelst zahlreicher Übertragungen auf Meerschweinchen glückte (vgl. Metschnikoff⁴⁾). Gewöhnlich sind die atypischen Formen weniger beständig (Friedrich⁵⁾).

Aus einer Hefekultur konnte Barber ebenso wie beim Typhus (s. o.) durch mikroskopische Isolierung eine Abart mit gestreckten Zellen züchten. Eine ähnliche, aber nicht dauerhafte Abänderung hatte Hansen schon früher in Gelatineplatten beobachtet.

Der Polymorphismus und Generationswechsel vieler Protozoen, z. B. der menschlichen und tierischen Malaria-parasiten, gehört nicht zu den Veränderungen, die wir hier besprechen wollen, weil er nur der regelmäßigen Entwicklung dieser Parasiten entspricht (S. 1122). Wohl würde aber eine Veränderlichkeit in unserem Sinne vorliegen, wenn die einzelnen Arten oder Abarten der Malariaerreger wirklich imstande wären, ineinander überzugehen. Das ist in der ersten Zeit nach ihrer Entdeckung vielfach behauptet, aber ebensooft und mit guten Gründen bestritten worden. In der Tat liegt es näher, die betreffende Tatsache durch Mischinfektion z. B. mit den Tertian- und Quartan-, bzw. Tropikaparasiten zu erklären. Immerhin gibt es Fälle, in denen diese Deutung recht gezwungen erscheint⁶⁾

§ 347. Sporen. Zur Sporenbildung ist außer gewissen äußeren Voraussetzungen, wie Temperatur, Sauerstoffzutritt, Erschöpfung der Nährböden usw. (§ 38), noch eine innere Anlage des Bakterienleibes bzw. Pilzleibes vonnöten, die nur einer beschränkten Zahl von Arten zukommt. Die Erfahrung hat gelehrt, daß alle diejenigen Mittel, die geeignet sind, die Entwicklung von Sporen zu stören, auch zum erblichen Verlust des Sporenbildungsvermögens führen. Rückschläge

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 641, 1904.

2) Arch. f. Hyg. 8.

3) Kruso, Zeitschr. f. Hyg. 17. 36.

4) Annal. Pasteur 1894. 5 und 8.

5) Arb. K. Gesundheitsamts 8.

6) Vgl. z. B. A. Plehn, Deutsch. med. Woch. 1907. 30.

sind sehr oft möglich und lassen sich durch die umgekehrte Behandlung befördern.

Den Verlust der Sporen bedingt z. B. die Züchtung bei zu hohen (42°) und bei zu niederen Temperaturen, oft genügt schon andauernde Kultur in Gelatinestich oder mit Zusätzen von wachstumshemmenden Stoffen (Kaliumbichromat, Karbol, Sublimat), ja schon von Glycerin und Traubenzucker in der üblichen Menge (Selter). Die Versuche sind meist am Milzbrandbazillus angestellt worden (Chamberland und Roux¹⁾, Roux²⁾, K. B. Lehmann³⁾, Behring⁴⁾, Phisalix⁵⁾); aber auch andere Aërobier, z. B. Heubazillen, verfallen den gleichen Einflüssen (Selter⁶⁾, Garbowski⁷⁾), während die Verhältnisse bei Anaërobiern, mindestens was die Einwirkung der letztgenannten Nährstoffe anlangt, verwickelter zu liegen scheinen⁸⁾. Systematische Versuche, den Anaërobiern das Sporenbildungsvermögen zu nehmen, liegen bisher kaum vor. Man kann vorläufig aber doch nach eigenen und fremden Erfahrungen sagen, daß auch Anaërobierstämme derselben Art oft eine recht ungleiche Neigung zur Sporenbildung zeigen, d. h. das Sporenbildungsvermögen zum Teil oder ganz einbüßen und ebenso wiedergewinnen können; auch über die Bedingungen, unter denen das eine oder andere geschieht, haben wir einige, freilich nur grob empirische Kenntnisse. Nach Graßberger und Schattenfroh (S. 353 u. 357) gibt es „denaturierbare“ Buttersäurebakterien, d. h. solche, die namentlich bei Übertragung auf feste zuckerhaltige Nährböden neben einer Änderung ihrer Form (s. o. § 346), neben dem Verlust ihrer Beweglichkeit (§ 348) auch einen Verlust ihrer Fähigkeit zur Sporenbildung erleiden, und andererseits solche, die nicht denaturierbar sind („bewegliche Buttersäurebazillen“). Auf alkalischem Stärkekleisteragar gelang es ihnen⁹⁾, den „unbeweglichen Buttersäurebazillus“, ebenso wie Albrecht¹⁰⁾ den unbeweglichen und sporenlosen Gasphlegmonebazillus wieder zu kräftiger Versporung anzuregen. Auch reine Eiweißnährböden erwiesen sich übrigens dazu als brauchbar¹¹⁾. Bredemann¹²⁾ ist der Ansicht (vgl. S. 355), daß die Unterscheidung zwischen denaturierbaren und nicht denaturierbaren Buttersäurebazillen nicht aufrecht zu erhalten ist, weil er selbst

1) Compt. rend. ac. sc. 96. 1090.

2) Annal. Pasteur 1890.

3) Münchn. med. Woch. 1887. 25.

4) Zeitschr. f. Hyg. 6. 125 und 7. 181.

5) Bull. méd. 1892. 25.

6) Zentr. Bakt. 37, 1904.

7) Ebenda 2. Abt. 19 und 20.

8) Vgl. über die Bedingungen der Sporenbildung namentlich v. Hibler, Untersuchungen über pathogene Anaëroben 1908. S. 185 ff.

9) Arch. f. Hyg. 37.

10) Arch. f. klin. Chir. 67, 1902.

11) Passini, Wien. klin. Woch. 1906. 627; Graßberger und Schattenfroh, Arch. f. Hyg. 60, 1907 und v. Hibler a. a. O.

12) Zentr. Bakt. 2. Abt. 23. 405.

Kulturen des „beweglichen Buttersäurebazillus“ in der Hand gehabt hat, die unbeweglich waren und keine Sporen bildeten. In diesen Fällen glückte es ihm, auf mit Kreide eingeriebenen Kartoffeln die Sporenbildung wieder hervorzurufen. Auf gewöhnlichem Traubenzuckeragar lassen sich dann diese wie andere Stämme leicht weiterzüchten, jedoch nur dann mit Erhaltung des Sporenbildungsvermögens, wenn man die Sporen allein überimpft, d. h. das Impfmateriel regelmäßig vorher 5 Minuten auf 80° erhitzt (S. 1127). Mit Hilfe mikroskopischer Auslese ist es Barber (S. 1131) gelungen, bei *Bac. megatherium* eine sporenlose Abart zu züchten. Er schließt daraus wohl nicht ganz mit Recht auf die maßgebende Bedeutung der Mutation. Auch Preisz¹⁾ isolierte aus einer und derselben Milzbrandkultur neben Bazillen, die leicht Sporen bildeten, solche, die es nicht taten.

Wenn die Neigung zur Bildung von Sporen variabel ist, so ist die Größe, Stellung und Form der Sporen²⁾, die Art ihrer Auskeimung³⁾, ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten⁴⁾ wahrscheinlich ebenso veränderlich. Dafür sprechen die Schwankungen, die in allen diesen Beziehungen bei den einzelnen Individuen derselben Kultur beobachtet werden, sowie die Erfahrungen, die man an verschiedenen Stämmen derselben Art gemacht hat (s. u. natürliche Varietäten § 357). Das schließt nicht aus, daß die Abweichungen geringer werden, wenn man die Stämme längere Zeit unter gleichen Bedingungen züchtet und dann vergleicht, wie es Bredemann getan hat.

Daß sporenbildende Hefezellen (*Saccharomyces*) die Fähigkeit, Sporen zu bilden, dauernd verlieren können, ist eine alte Erfahrung. So erwähnt Hansen⁵⁾ eine Abart des *S. Pastorianus* I, die schon 12 Jahre lang diese Eigenschaft beibehalten habe. Ja, nach demselben Forscher läßt sich gerade diese Abänderung sicherer beherrschen als die anderer Eigenschaften.

Die genannte Varietät wurde erhalten durch Züchtung in Bierwürze bei einer Temperatur, die höher war als das Temperaturmaximum für die Sporenbildung. Andere ähnliche Spielarten entstanden aber anscheinend freiwillig (*S. Ludwigii*, *Marxianus*⁶⁾, *Schizosaccharomyces octosporus*⁷⁾), waren allerdings nicht ebenso beständig, ließen sich z. B. in sporenbildende zurückverwandeln durch Übergang von Bierwürze zu Traubenzuckernährböden oder durch trockene Hitze, die die vegetativen Formen vernichtete und die noch vereinzelt gebildete Sporen übrig ließ.

1) Zentr. Bakt. 35. 6.

2) Vgl. hier v. Hibler, Bredemann a. a. O.

3) Ebenda und Caspari, Arch. f. Hyg. 42, 1902.

4) Compt. rend. trav. labor. Carlsburg 511, 1900; ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 199.

5) Vgl. Anm. 4.

6) S. bei Klöcker, Gärungsorganismen 1900, S. 194.

7) Beijerinck, Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 637, 1898.

§ 348. **Beweglichkeit.** Mehr oder minder vollständiger Verlust der Beweglichkeit¹⁾ wird nach unseren eigenen Erfahrungen gar nicht selten an Laboratoriumskulturen, z. B. von Typhus, Cholera beobachtet. Besonders berichten über unbewegliche Stämme des *Micrococcus agilis* und der *Sarcina mobilis* L e h m a n n und N e u m a n n, des Typhusbazillus S t e p h e n s ²⁾, des Colibazillus V i l l i n g e r ³⁾ und B a r b e r (S. 1131), des Choleravibrio B o n h o f f ⁴⁾. Teils handelt es sich um Abänderungen, die offenbar im Laufe der künstlichen Züchtung aus den älteren Nährböden aufgetreten sind, teils um Entartungsformen, die durch Kultur in karbolhaltiger Bouillon bei 42° (V i l l i n g e r) erhalten, teils um Rassen, die durch mikroskopische Auslese (B a r b e r) gewonnen wurden.

Aber auch der umgekehrte Fall, das Auftreten von Beweglichkeit bei sonst unbeweglichen Bakterien, ist beschrieben worden. Wir können allerdings vorläufig noch nicht glauben, daß die auffallende Behauptung von A. M e y e r ⁵⁾ und E l l i s ⁶⁾, alle K o k k e n und B a z i l l e n seien mit G e i ß e l n ausgestattet und b e w e g l i c h, den Tatsachen entspreche, aber kaum einen Zweifel läßt zu die Beobachtung von Z i e r l e r ⁷⁾, L e h m a n n und N e u m a n n, nach der der Bac. implexus, der sich jahrelang unbeweglich gezeigt habe, später lebhaft beweglich geworden sei. Es liegt freilich hier der Gedanke an einen R ü c k s c h l a g nahe genug. Ausgeschlossen scheint ein solcher dagegen nach unseren bisherigen Kenntnissen beim Ruhrbazillus, von dem ein Stamm nach M ü h l m a n n ⁸⁾ in stark alkalischer Bouillon fortgezüchtet, zu wiederholten Malen, aber immer nur vorübergehend, eine „typhöse Beweglichkeit“ in Traubenzuckerbouillon oder Agar gezeigt haben soll. Die sogenannte Beweglichkeit der „homogenen“ Tuberkelbazillen A r l o i n g s und C o u r m o n t s ist wohl nichts anderes als Molekularbewegung⁹⁾, die ja auch sonst oft mit Eigenbewegung verwechselt worden ist.

Ob die Z a h l und namentlich die A n o r d n u n g der G e i ß e l n ebenfalls erheblichen Abänderungen unterliegt in dem Sinne, daß ein

1) Über die Beeinflussung der Beweglichkeit durch physikalische und chemische Einflüsse vgl. § 46 u. 56.

2) Ref. Bull. Pasteur 1905. 241.

3) Arch. f. Hyg. 21.

4) Arch. f. Hyg. 22. 28.

5) Zentr. Bakt. 31.

6) Ebenda 33 und ebenda 2. Abt. 9 und 11.

7) Arch. f. Hyg. 34.

8) Arch. f. Hyg. 69, 1908.

9) Vgl. C. F r ä n k e l, Hyg. Rundschau 1900. 630; R o m b e r g, Deutsch. med. Woch. 1901. 18/19.

Übergang vom monotrichen zum lophotrichen oder peritrichen Typus und umgekehrt möglich wäre, ist noch nicht ausgemacht. Im allgemeinen scheint es sich hier um recht beständige Charaktere zu handeln (§ 359).

§ 349. **Zusammensetzung des Mikrobenleibes. Mikrochemische Reaktionen.** Über die Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung der Körper der Bakterien und Pilze und ihre Abhängigkeit von dem Entwicklungszustande und der Ernährung wurde schon früher gehandelt (S. 59). Wenn wir den ungleichen Gehalt von verschiedenen Rassen derselben Art an Schleim (§ 351), ihre ungleiche Ausstattung mit fermentativen Kräften (§ 353), ihre ungleiche Widerstandsfähigkeit (§ 350) und Reaktionsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten (s. o.) bedenken, wird es wahrscheinlich, daß sie auch in ihrem chemischen Aufbau mehr oder weniger erheblich voneinander abweichen können. Mit Hilfe der groben chemischen Analyse wird das aber nur ausnahmsweise, z. B. im ersteren Fall, nachweisbar sein. Es fehlt übrigens an Untersuchungen darüber.

Hin und wieder hat man bei verschiedenen Rassen derselben Art Unterschiede in ihrem mikrochemischen Verhalten (vgl. Kap. I), namentlich in ihrer Säurefestigkeit (vgl. § 19) gefunden. So sollen Bakterien bzw. Strahlenpilze durch Züchtung in fetthaltigen Nährböden säurefest werden (B i e n s t o c k ¹⁾, G o t t s t e i n ²⁾, P o t e t, P e l l e g r i n o ³⁾) und umgekehrt Leprabazillen in künstlichen Kulturen meist ihre Säurefestigkeit verlieren (D e y c k e und R e s c h a d - B e y ⁴⁾). Gewöhnlich handelt es sich aber wohl hier um eine nicht beständige Ernährungsmodifikation (Fettnahrung?) und im Falle der Lepra wohl um Verunreinigungen, die mit den eigentlichen Erregern der Lepra nichts zu tun haben. Gerade Strahlenpilze kommen als Verunreinigungen häufiger in Betracht, als man gewöhnlich annimmt, da sie in der Luft weit verbreitet sind und zum Teil hohe Temperaturen vertragen. Die Möglichkeit der Entstehung säurefester und nicht säurefester Spielarten einer und derselben Art ist freilich von vornherein um so weniger abzuleugnen, als säurefeste Mikroben, z. B. die Tuberkelbazillen, anscheinend gewisse Stadien der Entwicklung durchlaufen, in denen sie nicht säurefest sind (vgl. M u c h u. a. S. 45, Anm. 1). Ob das bei anderen Bakterien auch für

1) Fortschr. d. Mediz. 1886. 6.

2) Ebenda 1886. 8.

3) Annali d'igiene 1906.

4) Deutsch. med. Woch. 1905. 13/14. Vgl. aber die neuesten offenbar besser gelungenen Züchtungsversuche mit Leprabazillen von K e d r o w s k y und K ü s t e r (1910).

die Gramfestigkeit (§ 18) gilt, wäre zu erwägen. Dadurch würden sich dann vielleicht manche widerstreitende Angaben in der Literatur über die Fähigkeit gewisser Bakterien, sich nach Gram zu färben, erklären lassen. Vorläufig dünkt es uns freilich wahrscheinlicher, daß diese Abweichungen durch die etwas unregelmäßigen Ergebnisse des Färbeverfahrens selbst bedingt werden. Daß die Gramfestigkeit eine Eigenschaft ist, die bei manchen Bakterienarten stärker ausgesprochen ist als bei anderen, ist sicher, ebenso, daß absterbende Formen leichter entfärbbar sind als Bakterien auf der Höhe ihrer Entwicklung.

§ 350. Widerstandsfähigkeit. Daß die einzelnen Individuen derselben Kultur, und zwar sowohl im vegetativen als im Sporenzustand, ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse, z. B. ihre eigenen Stoffwechselprodukte¹⁾, ferner künstliche antiseptische Zusätze, Erhitzung und Trocknung besitzen, ist eine alltägliche Erfahrung, ebenso daß es namentlich unter den Sporenbildnern natürliche Rassen ungleicher Widerstandsfähigkeit²⁾ gibt. Die Desinfektionspraxis muß damit rechnen. Aber auch die künstliche Heranziehung widerstandsfähiger und andererseits widerstandsloser Spielarten ist mehrfach gelungen.

Nach der lange dauernden Einwirkung höherer Temperaturen oder antiseptischer Mittel zum Zwecke der Abschwächung von Bakterien beobachtete Smirnow³⁾ regelmäßig eine größere Empfindlichkeit gegen Desinfektionsmittel. Nach Behring⁴⁾ trifft das freilich nicht immer zu (S. 1067). Garbowski⁵⁾ beobachtete eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit auch bei Sporen von Saprophyten nach Behandlung mit physikalischen und chemischen Mitteln. Findet die Einwirkung der entwicklungshemmenden Einflüsse allmählich statt, so macht sich sogar eine Anpassung geltend. Das haben Galeotti⁶⁾, Dieudonné⁷⁾ für Milzbrand- und Prodigiosusbazillen gegenüber Temperaturen von 40—42°,

1) Vgl. das allmähliche Absterben der Keime in den Kulturen § 36 u. 37.

2) Es march, Zeitschr. f. Hyg. 1, Geppert, Berl. klin. Woch. 1889. 36 und 1890. 12, Weil, Zentr. Bakt. 30, Kokubo, ebenda 34 berichten über Milzbrandsporen, Dannappel, Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 841, 1900 über zahlreichen Sporenarten.

3) Zeitschr. f. Hyg. 4.

4) Ebenda 6.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 19 und 20.

6) Sperimentale 1892.

7) Arb. Gesundheitsamt 9.

Kossiakoff¹⁾, Trambusti und Galeotti für Saprophyten und Parasiten gegenüber Sublimat, Borsäure, Borax, Danysz²⁾ für Milzbrandbazillen gegenüber Arsenik, Schierbeck³⁾ für Milchsäurebazillen gegenüber Karbolsäure, Effront⁴⁾, Rothenbach⁵⁾ u. a. für Hefe gegenüber Flußsäure und ihren Salzen, Milch- und andere Säuren, Formaldehyd usw., Pulst⁶⁾ und Meißner⁷⁾ u. a. für Schimmelpilze gegenüber allerhand Giften, Mesnil und Brimont⁸⁾ für Trypanosomen gegenüber Tartarus stibiatus festgestellt. Der Mechanismus dieser Gewöhnung an Gifte ist anscheinend verwickelter, als man es sich im allgemeinen vorstellt (S. 188), denn sie gilt mindestens in vielen daraufhin geprüften Fällen nur für das betreffende einzelne Gift, während die Widerstandsfähigkeit für andere Gifte durch die Behandlung sogar verringert sein kann⁹⁾. Von der merkwürdigen Steigerung der Wachstums- und Gärungsenergie durch die Effrontsche Behandlung der Hefe (S. 182) und der vermehrten Schleimbildung (Kapselbildung) bei den an Arsenik angepaßten Milzbrandbazillen (Danysz S. 9) haben wir schon früher gesprochen. Die Anpassung an mangelhafte Nährböden (§ 351), an Sauerstoffspannungen, die ursprünglich nicht vertragen werden (§ 352), an Alexine im Reagensglas (§ 330) oder die Abwehrkräfte im lebenden Tier (§ 356) behandeln wir ebenfalls an anderen Stellen.

§ 351. Wachstum in künstlichen Nährböden und Kolonieförmigen. Peptonisierungsvermögen und Schleimbildung. Was man als Kulturmerkmale der Kleinwesen zu bezeichnen pflegt, sind keine individuellen Charaktere, sondern Massenwirkungen. Eine „Kulturgeneration“ setzt sich, wenn wir ihr Alter nur zu einem Tage annehmen und den Zeitraum von einer Teilung bis zur anderen auf eine halbe bis eine Stunde berechnen, aus 24—48 Einzelgenerationen zusammen (vgl. § 36). Die Kolonie auf der Platte kann man sich im allgemeinen aus einem einzigen Keim hervorgegangen denken, die Reagensglaskultur in Gelatine, die Bouillonkultur erwächst aber aus der Nachkommenschaft einer großen Zahl von Keimen. Diese Bemerkungen sind nötig, um die Bedeutung der Kulturmerkmale zu kennzeichnen. Eigentlich individuelle Abweichungen verschwinden in der gewöhnlichen Kultur fast

1) Annal. Pasteur 1887.

2) Annal. Pasteur 1900.

3) Arch. f. Hyg. 38.

4) Vgl. Kochs Jahresber. 1891 ff.

5) Ebenda 1896.

6) Pringsheims Jahresber. 37, 1902.

7) Dissertation Leipzig 1903, ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 153.

8) Soc. biol. 9. V. 1908. Im Reagensglasversuche bestätigt. Die Atoxylfestigkeit usw. der Trypanosomen (Ehrlich S. 188) ist nicht im Reagensglas nachzuweisen. Vgl. übrigens S. 662, Anm. 1.

9) Man könnte daran denken, daß sich daraus die abweichenden Erfahrungen Smirnows erklären.

vollständig, höchstens kann aus einer Verzögerung des Wachstums auf eine Schwächung der Entwicklungsenergie der verimpften Keime geschlossen werden. In der Regel werden nur solche Abänderungen in den Eigenschaften der Kultur zum Ausdruck kommen, die auf eine größere Reihe von Generationen vererblich sind. Es erhöht entschieden den Wert der Wachstumscharaktere, daß man aus den mit bloßem Auge oder mit schwacher Vergrößerung wahrnehmbaren Unterschieden schon auf erbliche Abänderungen schließen kann. Die Eigenschaften der Plattenkulturen sind für die Beurteilung der stattgehabten Veränderungen aber natürlich viel wichtiger, als die Reagensglaskulturen, weil sich in diesen letzteren die Variationen leicht gegenseitig aufheben.

Entsprechend dem oben ausgesprochenen Satze, daß in Kulturen, die beständig im jungen Zustand weiter verimpft werden, nur individuelle Abweichungen auftreten, finden wir im Aussehen der Kolonien auf den daraus angelegten Platten überhaupt keine abschätzbaren Unterschiede; ist das Kulturmateriale, das zur Zucht dient, älter, so stellen sich solche sehr häufig heraus.

Die ersten derartigen Beobachtungen wurden veröffentlicht in bezug auf *Bac. proteus* von Hauser¹⁾, auf Finkler-Priors *Spirillum* von Gruber und Firtsch²⁾. Sanfelice³⁾ hat die verschiedenen Formen der *Proteus*kolonien⁴⁾ und auch eine Reihe von anaëroben Fäulnisbakterien mit ähnlichen Eigenschaften der Kolonien genau beschrieben. Die Erscheinung ist aber eine noch viel mehr verbreitete, wenn sie auch bisher wenig Beachtung gefunden hat. Der *Prodigosus*, *Pyocyaneus*, das *Cholera*spirillum, der Typhus-, Ruhr- und der *Pneumonia*bazillus mit ihren Verwandten, Pestbazillen usw. weisen auch eine gewisse Variabilität der aus der Nachkommenschaft eines einzigen Keims hervorgegangenen Kolonien auf, wenn man zur Aussaat auf Platten alte Kulturen benutzt.

Den Unterschieden der Kolonien liegen verschiedene Eigentümlichkeiten zugrunde: in den meisten Fällen genügt es, Ungleichheiten in der Wachstumsschnelligkeit und im Verflüssigungsvermögen, d. h. also in der Produktion eines peptonisierenden Ferments anzunehmen. Beim Friedländerschen Bakterium wechselt das Schleimbildungsvermögen (Wilde a. a. O.). Daneben kommen aber noch in Betracht morphologische Verhältnisse, die Größe der Individuen, die Festigkeit ihrer Verbände

1) Fäulnisbakterien, Leipzig 1885.

2) Arch. f. Hyg. 8.

3) Annali d'igiene 1890.

4) Vgl. auch Jäger über die Kolonien des *Bac. proteus fluorescens* (Zeitschr. f. Hyg. 12).

(Ketten, Fäden), welche die Körnelung und Umrandung der Kolonien beeinflussen.

Die Kolonien eines und desselben Mikroorganismus auf verschiedenen Nährböden weichen sehr voneinander ab, wahrscheinlich schon wegen der durchaus verschiedenen physikalischen Verhältnisse. Praktisch wichtig, aber lange nicht genug gewürdigt sind die Unterschiede besonders auf den scheinbar gleich oder doch ähnlich zusammengesetzten Nährböden.

Nehmen wir z. B. die gewöhnliche Fleischwasserpeptonnährgelatine, so bedingt die Art der Herstellung schon ganz erhebliche Unterschiede, selbst wenn die Ursprungsstoffe in den gleichen Mischungsverhältnissen angewendet werden. Die Zeitdauer des Kochens der Gelatine beeinflußt bekanntlich die Festigkeit des Nährbodens und die letztere wiederum die Form der Kolonien. Der Typhusbazillus z. B., der in fester Gelatine glattrandige zusammenhängende Kolonien bildet, wächst auf einer weicheren wie ein Proteus mit zahlreichen korkzieher- und haarartigen Ausläufern und ähnelt im Strich nicht einem glatten Bande, sondern einer Bürste¹⁾.

Andere Unterschiede treten auf bei Ungleichheiten des Alkalizengrades oder des Gelatinegehalts des Nährbodens. So hängt z. B. das Oberflächenwachstum in Stichkulturen beim Typhusbazillus und ähnlichen Bakterien außerordentlich von diesen Dingen ab, ebenso die Stärke der Gelatineverflüssigung bei allen peptonisierenden Bakterien. Das Aussehen der Kolonien und Stichkulturen erleidet dadurch natürlich erhebliche Veränderungen (Cholera, Milzbrand). Auch die Zusammensetzung des Fleischsaftes ist nicht gleichgültig: feinere, uns unbekannte Schwankungen darin können ein verschiedenes Aussehen der Kulturen, namentlich eine ganz erheblich ungleiche Üppigkeit des Wachstums (Pneumokokken) bedingen. So erklären sich wohl zum großen Teil die abweichenden Angaben mancher Autoren über das Wachstum von Pneumokokken und Streptokokken in Bouillon (Kruse und Pansini²⁾, Pasquale³⁾). Ähnliche Unterschiede gelten bezüglich der Kulturen auf Agar (Pneumokokken), Kartoffeln (Typhus) usw. Ganz besonders wird auch das Schleimbildungsvermögen durch die Anwesenheit bestimmter Nährstoffe im Nährboden beeinflußt. So konnte z. B. Hlava⁴⁾ pathogene Streptokokken durch Züchtung in

1) Rosenthal, D. Arch. f. klin. Med. 55; Klie, Zentr. Bakt. 20, 1896; Piorkowski, Berl. klin. Woch. 1899. 145; eigene Beobachtungen.

2) Zeitschr. f. Hyg. 11. Ob der von Pane (Zentr. Bakt. 40. 279) beschriebene schleimbildende Bazillus, wie er meint, eine Abänderung des Pneumokokkus ist, bleibt sehr fraglich. Er fand sich in einem Esel, der mit Pneumokokken immunisiert worden war. Stäbchenbildung kommt freilich bei Pneumokokken besonders auf eigenem Nährboden häufig vor, ebenso Schleimbildung („Str. mucosus“).

3) Zieglers Beitr. 12, 1893.

4) Zentr. Bakt. 32.

Bouillon oder Agar mit 14% Rohrzucker in leuconostocartige Formen verwandeln (vgl. Schleimgärung S. 409).

Man kann von vornherein erwarten, daß diese Abänderungen mindestens zum Teil und zuweilen sich vererben, besonders dann, wenn die in den alten Kulturen oder in bestimmten Nährböden wirkenden Einflüsse wieder und wieder zur Geltung kommen. In ähnlichem Sinne werden auch schädliche Einwirkungen anderer Art, z. B. höhere Temperaturen, Antiseptika u. dgl., die ursprünglichen Wachstumseigenschaften beeinflussen können. Außerdem kämen dann dazu noch die bisher ihrer Natur nach unbekannten „freiwilligen“ Variationen aus inneren Ursachen (Mutationen s. o. S. 1123).

In der Tat hat man bei fast allen Mikroben derartiges beobachtet. So weiß man namentlich durch unsere umfassende Untersuchung über *Pneumokokken*, daß diese bei fortgesetzter Züchtung in künstlichen Nährböden nicht nur üppiger wachsen, sondern auch in den Formen ihrer Kolonien den pyogenen Streptokokken immer ähnlicher werden. Von den *Meningokokken* und den *Gonokokken* ist es bekannt, daß sie ursprünglich nur auf Nährböden mit Serumzusatz, später auch ohne solchen üppig wachsen. Auch *Diphtherie*-, *Tuberkelbazillen* u. a. m. verbessern ihr Wachstum mit der Zeit. Anspruchsloser in ihren Bedürfnissen werden nach *Inghilleri*¹⁾ die *Pestbazillen* durch den Aufenthalt im Wasser, so daß sie sogar mit den sog. Wasserbakterien, die darin zu wachsen vermögen, in Wettbewerb treten können (vgl. auch *Kruse*²⁾). Während die Bakterien in diesen Fällen sich dem künstlichen Nährboden anzupassen scheinen, erhält man bei anderen, z. B. Milzbrand-, *Fluorescens*-³⁾, *Cholera*bazillen, *Staphylokokken*, manchen Streptokokken⁴⁾ vielfach den Eindruck, daß sie mindestens bei der gewöhnlichen Art der Übertragung — von älteren Kulturen — an Entwicklungskraft einbüßen. Zumal wenn hier gleichzeitig das Verflüssigungsvermögen für Gelatine abnimmt, ändert sich auch die Form der Kolonien. Solch ein dauernd „atypisches Wachstum“ ist oft gesehen worden, besonders bei in der einen oder anderen Weise abgeschwächtem Milzbrand (*Bongert*⁵⁾, *Scagliosi*⁶⁾, eigene Beobachtungen), bei *Cholera*, z. B. nach Aufenthalt im Wasser (*Kruse*²⁾). Nachdem *Liborius*⁷⁾ beobachtet hatte, daß viele Bakterien bei Wachstum ohne Sauerstoffzutritt und einzelne in Nährböden, denen reduzierende Stoffe wie Traubenzucker zugesetzt worden sind, die Gelatine langsamer oder gar nicht verflüssigen, hat *Sanfelice*⁸⁾ durch fortgesetzte anaerobe Züch-

1) *Annali d'igiene* 1903.

2) *Zeitschr. f. Hyg.* 17.

3) Vgl. z. B. *Matsuschita*, *Zentr. Bakt.* 28. 303, 1900.

4) Vgl. *Scheib*, *Zeitschr. f. Geburtsh.* 58.

5) *Zentr. Bakt.* 34.

6) *Ebenda* 37.

7) *Zeitschr. f. Hyg.* 1. 156

8) *Annali d'igiene* 1892.

Kulturen des „beweglichen Buttersäurebazillus“ in der Hand gehabt hat, die unbeweglich waren und keine Sporen bildeten. In diesen Fällen glückte es ihm, auf mit Kreide eingeriebenen Kartoffeln die Sporenbildung wieder hervorzurufen. Auf gewöhnlichem Traubenzuckeragar lassen sich dann diese wie andere Stämme leicht weiterzüchten, jedoch nur dann mit Erhaltung des Sporenbildungsvermögens, wenn man die Sporen allein überimpft, d. h. das Impfmateriel regelmäßig vorher 5 Minuten auf 80° erhitzt (S 1127). Mit Hilfe mikroskopischer Auslese ist es Barber (S. 1131) gelungen, bei *Bac. megatherium* eine sporenlose Abart zu züchten. Er schließt daraus wohl nicht ganz mit Recht auf die maßgebende Bedeutung der Mutation. Auch Preisz¹⁾ isolierte aus einer und derselben Milzbrandkultur neben Bazillen, die leicht Sporen bildeten, solche, die es nicht taten.

Wenn die Neigung zur Bildung von Sporen variabel ist, so ist die Größe, Stellung und Form der Sporen²⁾, die Art ihrer Auskeimung³⁾, ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten⁴⁾ wahrscheinlich ebenso veränderlich. Dafür sprechen die Schwankungen, die in allen diesen Beziehungen bei den einzelnen Individuen derselben Kultur beobachtet werden, sowie die Erfahrungen, die man an verschiedenen Stämmen derselben Art gemacht hat (s. u. natürliche Varietäten § 357). Das schließt nicht aus, daß die Abweichungen geringer werden, wenn man die Stämme längere Zeit unter gleichen Bedingungen züchtet und dann vergleicht, wie es Bredemann getan hat.

Daß sporenbildende Hefezellen (*Saccharomyces*) die Fähigkeit, Sporen zu bilden, dauernd verlieren können, ist eine alte Erfahrung. So erwähnt Hansen⁵⁾ eine Abart des *S. Pastorianus* I, die schon 12 Jahre lang diese Eigenschaft beibehalten habe. Ja, nach demselben Forscher läßt sich gerade diese Abänderung sicherer beherrschen als die anderer Eigenschaften.

Die genannte Varietät wurde erhalten durch Züchtung in Bierwürze bei einer Temperatur, die höher war als das Temperaturmaximum für die Sporenbildung. Andere ähnliche Spielarten entstanden aber anscheinend freiwillig (*S. Ludwigii*, *Marxianus*⁶⁾, *Schizosaccharomyces octosporus*⁷⁾), waren allerdings nicht ebenso beständig, ließen sich z. B. in sporenbildende zurückverwandeln durch Übergang von Bierwürze zu Traubenzuckernährböden oder durch trockene Hitze, die die vegetativen Formen vernichtete und die noch vereinzelt gebildete Sporen übrig ließ.

1) Zentr. Bakt. 35. 6.

2) Vgl. hier v. Hibler, Bredemann a. a. O.

3) Ebenda und Caspari, Arch. f. Hyg. 42, 1902.

4) Compt. rend. trav. labor. Carlsburg 511, 1900; ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 199.

5) Vgl. Anm. 4.

6) S. bei Klöcker, Gärungsorganismen 1900, S. 194.

7) Beijerinck, Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 637, 1898.

§ 348. **Beweglichkeit.** Mehr oder minder vollständiger Verlust der Beweglichkeit¹⁾ wird nach unseren eigenen Erfahrungen gar nicht selten an Laboratoriumskulturen, z. B. von Typhus, Cholera beobachtet. Besonders berichten über unbewegliche Stämme des *Micrococcus agilis* und der *Sarcina mobilis* L e h m a n n und N e u m a n n, des Typhusbazillus S t e p h e n s ²⁾, des Colibazillus V i l l i n g e r ³⁾ und B a r b e r (S. 1131), des Choleravibrio B o n h o f f ⁴⁾. Teils handelt es sich um Abänderungen, die offenbar im Laufe der künstlichen Züchtung aus den älteren Nährböden aufgetreten sind, teils um Entartungsformen, die durch Kultur in karbolhaltiger Bouillon bei 42° (V i l l i n g e r) erhalten, teils um Rassen, die durch mikroskopische Auslese (B a r b e r) gewonnen wurden.

Aber auch der umgekehrte Fall, das Auftreten von Beweglichkeit bei sonst unbeweglichen Bakterien, ist beschrieben worden. Wir können allerdings vorläufig noch nicht glauben, daß die auffallende Behauptung von A. M e y e r ⁵⁾ und E l l i s ⁶⁾, alle K o k k e n und B a z i l l e n seien mit G e i ß e l n ausgestattet und b e w e g l i c h, den Tatsachen entspreche, aber kaum einen Zweifel läßt zu die Beobachtung von Z i e r l e r ⁷⁾, L e h m a n n und N e u m a n n, nach der der Bac. implexus, der sich jahrelang unbeweglich gezeigt habe, später lebhaft beweglich geworden sei. Es liegt freilich hier der Gedanke an einen R ü c k s c h l a g nahe genug. Ausgeschlossen scheint ein solcher dagegen nach unseren bisherigen Kenntnissen beim Ruhrbazillus, von dem ein Stamm nach M ü h l m a n n ⁸⁾ in stark alkalischer Bouillon fortgezüchtet, zu wiederholten Malen, aber immer nur vorübergehend, eine „typhöse Beweglichkeit“ in Traubenzuckerbouillon oder Agar gezeigt haben soll. Die sogenannte Beweglichkeit der „homogenen“ Tuberkelbazillen A r l o i n g s und C o u r m o n t s ist wohl nichts anderes als Molekularbewegung⁹⁾, die ja auch sonst oft mit Eigenbewegung verwechselt worden ist.

Ob die Z a h l und namentlich die A n o r d n u n g der G e i ß e l n ebenfalls erheblichen Abänderungen unterliegt in dem Sinne, daß ein

1) Über die Beeinflussung der Beweglichkeit durch physikalische und chemische Einflüsse vgl. § 46 u. 56.

2) Ref. Bull. Pasteur 1905. 241.

3) Arch. f. Hyg. 21.

4) Arch. f. Hyg. 22. 28.

5) Zentr. Bakt. 31.

6) Ebenda 33 und ebenda 2. Abt. 9 und 11.

7) Arch. f. Hyg. 34.

8) Arch. f. Hyg. 69, 1908.

9) Vgl. C. F r ä n k e l, Hyg. Rundschau 1900. 630; R o m b e r g, Deutsch. med. Woch. 1901. 18/19.

Übergang vom monotrichen zum lophotrichen oder peritrichen Typus und umgekehrt möglich wäre, ist noch nicht ausgemacht. Im allgemeinen scheint es sich hier um recht beständige Charaktere zu handeln (§ 359).

§ 349. **Zusammensetzung des Mikrobenleibes. Mikrochemische Reaktionen.** Über die Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung der Körper der Bakterien und Pilze und ihre Abhängigkeit von dem Entwicklungszustande und der Ernährung wurde schon früher gehandelt (S. 59). Wenn wir den ungleichen Gehalt von verschiedenen Rassen derselben Art an Schleim (§ 351), ihre ungleiche Ausstattung mit fermentativen Kräften (§ 353), ihre ungleiche Widerstandsfähigkeit (§ 350) und Reaktionsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten (s. o.) bedenken, wird es wahrscheinlich, daß sie auch in ihrem chemischen Aufbau mehr oder weniger erheblich voneinander abweichen können. Mit Hilfe der groben chemischen Analyse wird das aber nur ausnahmsweise, z. B. im ersteren Fall, nachweisbar sein. Es fehlt übrigens an Untersuchungen darüber.

Hin und wieder hat man bei verschiedenen Rassen derselben Art Unterschiede in ihrem mikrochemischen Verhalten (vgl. Kap. I), namentlich in ihrer Säurefestigkeit (vgl. § 19) gefunden. So sollen Bakterien bzw. Strahlenpilze durch Züchtung in fetthaltigen Nährböden säurefest werden (B i e n s t o c k ¹⁾, G o t t s t e i n ²⁾, P o t e t, P e l l e g r i n o ³⁾) und umgekehrt Leprabazillen in künstlichen Kulturen meist ihre Säurefestigkeit verlieren (D e y c k e und R e s c h a d - B e y ⁴⁾). Gewöhnlich handelt es sich aber wohl hier um eine nicht beständige Ernährungsmodifikation (Fettnahrung?) und im Falle der Lepra wohl um Verunreinigungen, die mit den eigentlichen Erregern der Lepra nichts zu tun haben. Gerade Strahlenpilze kommen als Verunreinigungen häufiger in Betracht, als man gewöhnlich annimmt, da sie in der Luft weit verbreitet sind und zum Teil hohe Temperaturen vertragen. Die Möglichkeit der Entstehung säurefester und nicht säurefester Spielarten einer und derselben Art ist freilich von vornherein um so weniger abzuleugnen, als säurefeste Mikroben, z. B. die Tuberkelbazillen, anscheinend gewisse Stadien der Entwicklung durchlaufen, in denen sie nicht säurefest sind (vgl. M u c h u. a. S. 45, Anm. 1). Ob das bei anderen Bakterien auch für

1) Fortschr. d. Mediz. 1886. 6.

2) Ebenda 1886. 8.

3) Annali d'igiene 1906.

4) Deutsch. med. Woch. 1905. 13/14. Vgl. aber die neuesten offenbar besser gelungenen Züchtungsversuche mit Leprabazillen von K e d r o w s k y und K ü s t e r (1910).

die Gramfestigkeit (§ 18) gilt, wäre zu erwägen. Dadurch würden sich dann vielleicht manche widerstreitende Angaben in der Literatur über die Fähigkeit gewisser Bakterien, sich nach Gram zu färben, erklären lassen. Vorläufig dünkt es uns freilich wahrscheinlicher, daß diese Abweichungen durch die etwas unregelmäßigen Ergebnisse des Färbeverfahrens selbst bedingt werden. Daß die Gramfestigkeit eine Eigenschaft ist, die bei manchen Bakterienarten stärker ausgesprochen ist als bei anderen, ist sicher, ebenso, daß absterbende Formen leichter entfärbbar sind als Bakterien auf der Höhe ihrer Entwicklung.

§ 350. **Widerstandsfähigkeit.** Daß die einzelnen Individuen derselben Kultur, und zwar sowohl im vegetativen als im Sporenzustand, ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse, z. B. ihre eigenen Stoffwechselprodukte¹⁾, ferner künstliche antiseptische Zusätze, Erhitzung und Trocknung besitzen, ist eine alltägliche Erfahrung, ebenso daß es namentlich unter den Sporenbildnern natürliche Rassen ungleicher Widerstandsfähigkeit²⁾ gibt. Die Desinfektionspraxis muß damit rechnen. Aber auch die künstliche Heranziehung widerstandsfähiger und andererseits widerstandsloser Spielarten ist mehrfach gelungen.

Nach der lange dauernden Einwirkung höherer Temperaturen oder antiseptischer Mittel zum Zwecke der Abschwächung von Bakterien beobachtete Smirnow³⁾ regelmäßig eine größere Empfindlichkeit gegen Desinfektionsmittel. Nach Behring⁴⁾ trifft das freilich nicht immer zu (S. 1067). Garbowski⁵⁾ beobachtete eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit auch bei Sporen von Saprophyten nach Behandlung mit physikalischen und chemischen Mitteln. Findet die Einwirkung der entwicklungshemmenden Einflüsse allmählich statt, so macht sich sogar eine Anpassung geltend. Das haben Galeotti⁶⁾, Dieudonné⁷⁾ für Milzbrand- und Prodigiosusbazillen gegenüber Temperaturen von 40—42°,

1) Vgl. das allmähliche Absterben der Keime in den Kulturen § 36 u. 37.

2) Es march, Zeitschr. f. Hyg. 1, Geppert, Berl. klin. Woch. 1889. 36 und 1890. 12, Weil, Zentr. Bakt. 30, Kokubo, ebenda 34 berichten über Milzbrandsporen, Dannappel, Zentr. Bakt. 2. Abt. 8. 841, 1900 über zahlreichen Sporenarten.

3) Zeitschr. f. Hyg. 4.

4) Ebenda 6.

5) Zentr. Bakt. 2. Abt. 19 und 20.

6) Sperimentale 1892.

7) Arb. Gesundheitsamt 9.

peschkin¹⁾ bei einem „Bac. Berestnevi“, der offenbar einen Übergang zu den Strahlenpilzen bildet. Denn die Nachkommen verzweigter Individuen wiesen viel häufiger diese Merkmale auf, als die von unverzweigten.

Während man unmittelbar nach der Entdeckung des Cholera-vibrio großen Wert auf die bestimmte Form und Größe desselben legte und glaubte, ihn schon dadurch von ähnlichen Vibrionen trennen zu können, wies zunächst Firtsch²⁾ am Spirillum Finkler-Prior („Vibrio Proteus“) nach, daß er sich in morphologische Abarten von mehr oder minder großer Beständigkeit spalten läßt. Dasselbe gelang mir³⁾ beim Choleravibrio. Nach längerem Aufenthalt in Brunnenwasser wurden aus ihm zwei dauerhafte Varietäten herausgezüchtet, von denen die eine regelmäßig plumpe, die andere lange, schlanke Kommas bildete. Später isolierte ich ähnliche Spielarten aus sehr alten Cholerakulturen, deren Zurückführung auf den alten Typus erst mittelst zahlreicher Übertragungen auf Meerschweinchen glückte (vgl. Metschnikoff⁴⁾). Gewöhnlich sind die atypischen Formen weniger beständig (Friedrich⁵⁾).

Aus einer Hefekultur konnte Barber ebenso wie beim Typhus (s. o.) durch mikroskopische Isolierung eine Abart mit gestreckten Zellen züchten. Eine ähnliche, aber nicht dauerhafte Abänderung hatte Hansen schon früher in Gelatineplatten beobachtet.

Der Polymorphismus und Generationswechsel vieler Protozoen, z. B. der menschlichen und tierischen Malaria-parasiten, gehört nicht zu den Veränderungen, die wir hier besprechen wollen, weil er nur der regelmäßigen Entwicklung dieser Parasiten entspricht (S. 1122). Wohl würde aber eine Veränderlichkeit in unserem Sinne vorliegen, wenn die einzelnen Arten oder Abarten der Malariaerreger wirklich imstande wären, ineinander überzugehen. Das ist in der ersten Zeit nach ihrer Entdeckung vielfach behauptet, aber ebensooft und mit guten Gründen bestritten worden. In der Tat liegt es näher, die betreffende Tatsache durch Mischinfektion z. B. mit den Tertian- und Quartan-, bzw. Tropikaparasiten zu erklären. Immerhin gibt es Fälle, in denen diese Deutung recht gezwungen erscheint⁶⁾

§ 347. Sporen. Zur Sporenbildung ist außer gewissen äußeren Voraussetzungen, wie Temperatur, Sauerstoffzutritt, Erschöpfung der Nährböden usw. (§ 38), noch eine innere Anlage des Bakterienleibes bzw. Pilzleibes vonnöten, die nur einer beschränkten Zahl von Arten zukommt. Die Erfahrung hat gelehrt, daß alle diejenigen Mittel, die geeignet sind, die Entwicklung von Sporen zu stören, auch zum erblichen Verlust des Sporenbildungsvermögens führen. Rückschläge

1) Zentr. Bakt. 2. Abt. 12. 641, 1904.

2) Arch. f. Hyg. 8.

3) Kruse, Zeitschr. f. Hyg. 17. 36.

4) Annal. Pasteur 1894. 5 und 8.

5) Arb. K. Gesundheitsamts 8.

6) Vgl. z. B. A. Plehn, Deutsch. med. Woch. 1907. 30.

Gelegentlich kommen auch streng anaërobe Strepto- und Pneumokokken vor. In einem solchen Falle gelang B o l o g n e s i ¹⁾ schließlich doch die Kultur bei Sauerstoffzutritt.

§ 353. **Zersetzungen und Zersetzungsstoffe.** Die Veränderlichkeit des Verflüssigungs- (Peptonisierungs-) und Schleimbildungsvermögens wurde schon früher besprochen (§ 351). In ähnlicher Weise können auch andere, ja wahrscheinlich alle anderen fermentativen Vorgänge Abänderungen unterliegen. Hand in Hand mit den eiweißlösenden Enzymen pflegt auch das L a b e n z y m der Mikroben verloren zu gehen. Eine mehr oder minder vollständige Einbuße der ursprünglich vorhandenen Fähigkeit, Milch gerinnen zu lassen, ist aber auch bei nicht labbildenden Bakterien, z. B. Streptokokken, Coli- und Aërogenesbazillen, wenn sie auf einem gewöhnlichen, von Milchzucker freien Nährboden gezüchtet werden, häufig zu beobachten. Hier leidet offenbar das Vermögen, den Milchzucker in milch- oder essigsäure bzw. gemischte Gärung zu versetzen (§ 97 u. 98 ff., 112). In der Literatur sind zahlreiche Versuche, das Gärvermögen von Bakterien und Pilzen gegenüber diesen und anderen Zuckerarten bzw. Glykosiden, ebenso wie alle möglichen anderen fermentativen Eigenschaften zu beeinflussen, niedergelegt. Sie haben aber recht ungleiche Ergebnisse gehabt, unseres Erachtens nur ein Beweis dafür, daß die Fähigkeit, Gärungsenzyme zu bilden, bald mehr, bald weniger beständig ist.

Erhebliche Abänderungen beobachteten G r o t e n f e l t ²⁾, R o d e t und R o u x ³⁾, M a l v o z ⁴⁾, S c h i e r b e c k ⁵⁾, Th. G r u b e r ⁶⁾, K l o t z ⁷⁾, M. N e i ß e r und M a s s i n i ⁸⁾, B u r k ⁹⁾, S a u e r b e c k ¹⁰⁾ und Verfasser bei Bakterien aus der Gruppe der Aërogenes- und Colibazillen, und zwar zeigten sich diese — nach Züchtung in ungünstigen, z. B. karbolhaltigen Nährböden — teils in einer A b n a h m e, teils — nach systematischer Anpassung an Nährböden, die vergärbare Stoffe enthielten — in einer Z u n a h m e der Gärkraft (oder des hydrolytischen Vermögens). Manchmal entspricht einer Z u n a h m e des V e r m ö g e n s, s a u r e G ä r u n g e n zu bewirken, eine A b n a h m e des S c h l e i m b i l d u n g s v e r m ö g e n s (Th. G r u -

1) Zentr. Bakt. 43. 112.

2) Fortschr. d. Med. 1889. 4.

3) Bull. méd. 1892. 865.

4) Recherches bactériol. s. l. fièvre typhoïde. Bruxelles 1892; vgl. auch die Literatur bei K i e ß l i n g, Hyg. Rundschau 1893. 17.

5) Arch. f. Hyg. 38.

6) Zentr. Bakt. 2. Abt. 9. 786.

7) Journ. of infect. diseases. 1906.

8) Arch. f. Hyg. 61, 1907.

9) Arch. f. Hyg. 65.

10) Zentr. Bakt. 50, 1909.

Kulturen des „beweglichen Buttersäurebazillus“ in der Hand gehabt hat, die unbeweglich waren und keine Sporen bildeten. In diesen Fällen glückte es ihm, auf mit Kreide eingeriebenen Kartoffeln die Sporenbildung wieder hervorzurufen. Auf gewöhnlichem Traubenzuckeragar lassen sich dann diese wie andere Stämme leicht weiterzüchten, jedoch nur dann mit Erhaltung des Sporenbildungsvermögens, wenn man die Sporen allein überimpft, d. h. das Impfmateriel regelmäßig vorher 5 Minuten auf 80° erhitzt (S. 1127). Mit Hilfe mikroskopischer Auslese ist es Barber (S. 1131) gelungen, bei *Bac. megatherium* eine sporenlose Abart zu züchten. Er schließt daraus wohl nicht ganz mit Recht auf die maßgebende Bedeutung der Mutation. Auch Preisz¹⁾ isolierte aus einer und derselben Milzbrandkultur neben Bazillen, die leicht Sporen bildeten, solche, die es nicht taten.

Wenn die Neigung zur Bildung von Sporen variabel ist, so ist die Größe, Stellung und Form der Sporen²⁾, die Art ihrer Auskeimung³⁾, ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten⁴⁾ wahrscheinlich ebenso veränderlich. Dafür sprechen die Schwankungen, die in allen diesen Beziehungen bei den einzelnen Individuen derselben Kultur beobachtet werden, sowie die Erfahrungen, die man an verschiedenen Stämmen derselben Art gemacht hat (s. u. natürliche Varietäten § 357). Das schließt nicht aus, daß die Abweichungen geringer werden, wenn man die Stämme längere Zeit unter gleichen Bedingungen züchtet und dann vergleicht, wie es Bredemann getan hat.

Daß sporenbildende Hefezellen (*Saccharomyces*) die Fähigkeit, Sporen zu bilden, dauernd verlieren können, ist eine alte Erfahrung. So erwähnt Hansen⁵⁾ eine Abart des *S. Pastorianus* I, die schon 12 Jahre lang diese Eigenschaft beibehalten habe. Ja, nach demselben Forscher läßt sich gerade diese Abänderung sicherer beherrschen als die anderer Eigenschaften.

Die genannte Varietät wurde erhalten durch Züchtung in Bierwürze bei einer Temperatur, die höher war als das Temperaturmaximum für die Sporenbildung. Andere ähnliche Spielarten entstanden aber anscheinend freiwillig (*S. Ludwigii*, *Marxianus*⁶⁾, *Schizosaccharomyces octosporus*⁷⁾), waren allerdings nicht ebenso beständig, ließen sich z. B. in sporenbildende zurückverwandeln durch Übergang von Bierwürze zu Traubenzuckernährböden oder durch trockene Hitze, die die vegetativen Formen vernichtete und die noch vereinzelt gebildete Sporen übrig ließ.

1) Zentr. Bakt. 35. 6.

2) Vgl. hier v. Hibler, Bredemann a. a. O.

3) Ebenda und Caspari, Arch. f. Hyg. 42, 1902.

4) Compt. rend. trav. labor. Carlsburg 511, 1900; ref. Zentr. Bakt. 2. Abt. 7. 199.

5) Vgl. Anm. 4.

6) S. bei Klöcker, Gärungsorganismen 1900, S. 194.

7) Beijerinck, Zentr. Bakt. 2. Abt. 4. 637, 1898.

§ 348. **Beweglichkeit.** Mehr oder minder vollständiger Verlust der Beweglichkeit¹⁾ wird nach unseren eigenen Erfahrungen gar nicht selten an Laboratoriumskulturen, z. B. von Typhus, Cholera beobachtet. Besonders berichten über unbewegliche Stämme des *Micrococcus agilis* und der *Sarcina mobilis* L e h m a n n und N e u m a n n, des Typhusbazillus S t e p h e n s ²⁾, des Colibazillus V i l l i n g e r ³⁾ und B a r b e r (S. 1131), des Choleravibrio B o n h o f f ⁴⁾. Teils handelt es sich um Abänderungen, die offenbar im Laufe der künstlichen Züchtung aus den älteren Nährböden aufgetreten sind, teils um Entartungsformen, die durch Kultur in karbolhaltiger Bouillon bei 42° (V i l l i n g e r) erhalten, teils um Rassen, die durch mikroskopische Auslese (B a r b e r) gewonnen wurden.

Aber auch der umgekehrte Fall, das Auftreten von Beweglichkeit bei sonst unbeweglichen Bakterien, ist beschrieben worden. Wir können allerdings vorläufig noch nicht glauben, daß die auffallende Behauptung von A. M e y e r ⁵⁾ und E l l i s ⁶⁾, alle K o k k e n und B a z i l l e n seien mit G e i ß e l n a u s g e s t a t t e t und b e w e g l i c h, den Tatsachen entspreche, aber kaum einen Zweifel läßt zu die Beobachtung von Z i e r l e r ⁷⁾, L e h m a n n und N e u m a n n, nach der der Bac. implexus, der sich jahrelang unbeweglich gezeigt habe, später lebhaft beweglich geworden sei. Es liegt freilich hier der Gedanke an einen R ü c k s c h l a g nahe genug. Ausgeschlossen scheint ein solcher dagegen nach unseren bisherigen Kenntnissen beim Ruhrbazillus, von dem ein Stamm nach M ü h l m a n n ⁸⁾ in stark alkalischer Bouillon fortgezüchtet, zu wiederholten Malen, aber immer nur vorübergehend, eine „typhöse Beweglichkeit“ in Traubenzuckerbouillon oder Agar gezeigt haben soll. Die sogenannte Beweglichkeit der „homogenen“ Tuberkelbazillen A r l o i n g s und C o u r m o n t s ist wohl nichts anderes als Molekularbewegung⁹⁾, die ja auch sonst oft mit Eigenbewegung verwechselt worden ist.

Ob die Z a h l und namentlich die A n o r d n u n g der G e i ß e l n ebenfalls erheblichen Abänderungen unterliegt in dem Sinne, daß ein

1) Über die Beeinflussung der Beweglichkeit durch physikalische und chemische Einflüsse vgl. § 46 u. 56.

2) Ref. Bull. Pasteur 1905. 241.

3) Arch. f. Hyg. 21.

4) Arch. f. Hyg. 22. 28.

5) Zentr. Bakt. 31.

6) Ebenda 33 und ebenda 2. Abt. 9 und 11.

7) Arch. f. Hyg. 34.

8) Arch. f. Hyg. 69, 1908.

9) Vgl. C. F r ä n k e l, Hyg. Rundschau 1900. 630; R o m b e r g, Deutsch. med. Woch. 1901. 18/19.

Übergang vom monotrichen zum lophotrichen oder peritrichen Typus und umgekehrt möglich wäre, ist noch nicht ausgemacht. Im allgemeinen scheint es sich hier um recht beständige Charaktere zu handeln (§ 359).

§ 349. **Zusammensetzung des Mikrobenleibes. Mikrochemische Reaktionen.** Über die Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung der Körper der Bakterien und Pilze und ihre Abhängigkeit von dem Entwicklungszustande und der Ernährung wurde schon früher gehandelt (S. 59). Wenn wir den ungleichen Gehalt von verschiedenen Rassen derselben Art an Schleim (§ 351), ihre ungleiche Ausstattung mit fermentativen Kräften (§ 353), ihre ungleiche Widerstandsfähigkeit (§ 350) und Reaktionsfähigkeit gegenüber Schädlichkeiten (s. o.) bedenken, wird es wahrscheinlich, daß sie auch in ihrem chemischen Aufbau mehr oder weniger erheblich voneinander abweichen können. Mit Hilfe der groben chemischen Analyse wird das aber nur ausnahmsweise, z. B. im ersteren Fall, nachweisbar sein. Es fehlt übrigens an Untersuchungen darüber.

Hin und wieder hat man bei verschiedenen Rassen derselben Art Unterschiede in ihrem mikrochemischen Verhalten (vgl. Kap. I), namentlich in ihrer Säurefestigkeit (vgl. § 19) gefunden. So sollen Bakterien bzw. Strahlenpilze durch Züchtung in fetthaltigen Nährböden säurefest werden (B i e n s t o c k ¹⁾, G o t t s t e i n ²⁾, P o t e t, P e l l e g r i n o ³⁾) und umgekehrt Leprabazillen in künstlichen Kulturen meist ihre Säurefestigkeit verlieren (D e y c k e und R e s c h a d - B e y ⁴⁾). Gewöhnlich handelt es sich aber wohl hier um eine nicht beständige Ernährungsmodifikation (Fettnahrung?) und im Falle der Lepra wohl um Verunreinigungen, die mit den eigentlichen Erregern der Lepra nichts zu tun haben. Gerade Strahlenpilze kommen als Verunreinigungen häufiger in Betracht, als man gewöhnlich annimmt, da sie in der Luft weit verbreitet sind und zum Teil hohe Temperaturen vertragen. Die Möglichkeit der Entstehung säurefester und nicht säurefester Spielarten einer und derselben Art ist freilich von vornherein um so weniger abzuleugnen, als säurefeste Mikroben, z. B. die Tuberkelbazillen, anscheinend gewisse Stadien der Entwicklung durchlaufen, in denen sie nicht säurefest sind (vgl. M u c h u. a. S. 45, Anm. 1). Ob das bei anderen Bakterien auch für

1) Fortschr. d. Mediz. 1886. 6.

2) Ebenda 1886. 8.

3) Annali d'igiene 1906.

4) Deutsch. med. Woch. 1905. 13/14. Vgl. aber die neuesten offenbar besser gelungenen Züchtungsversuche mit Leprabazillen von K e d r o w s k y und K ü s t e r (1910).

§ 355. **Giftigkeit.** Die Veränderlichkeit der Giftbildung bei verschiedenen Stämmen einer und derselben Bakterienart ist eine längst bekannte Tatsache. Meist handelt es sich dabei nur um quantitative, manchmal aber, wenigstens anscheinend, auch um qualitative Unterschiede, d. h. um das Auftreten bestimmter Gifte bei einigen Stämmen, die bei anderen fehlen. Dahin gehören namentlich die hämolytischen (vgl. Cholerabazillen, El-Tor § 312) und die akut wirkenden Gifte (Typhus § 286, Cholera § 284). Aber auch die Giftigkeit eines und desselben Stammes wechselt, indem sie entweder — z. B. bei fortgesetzter Kultur in den gewöhnlichen Nährböden — abnimmt oder namentlich bei Züchtung unter bestimmten für die Giftbildung günstigen Bedingungen zunimmt. Die Angaben über die Beschaffenheit dieser Bedingungen wechseln sehr, vielfach wird behauptet, der Durchgang durch den Tierkörper verstärke die Giftigkeit (§ 271). Als Regel darf das aber wohl nicht gelten, die Analogie mit der Virulenz besteht jedenfalls nicht zu Recht, eher darf man das Gegenteil erwarten, da beide Eigenschaften ja sogar — wenigstens bei den Immungiften — einander entgegengesetzt zu sein pflegen (§ 268). Nur die gewöhnlichen Endotoxine nehmen manchmal (S. 948) und die Hämolsine öfters (vgl. Staphylokokken und Streptokokken § 312) gleichzeitig mit der Virulenz zu und ab. Eigentümlich und noch nicht aufgeklärt sind die gewissermaßen individuellen Schwankungen in der Giftbildung, die z. B. beobachtet werden, wenn man eine Reihe von ganz gleich zusammengesetzten Nährflüssigkeiten mit derselben Kultur beimpft. Ob hier vererbliche Mutationen oder bloß Ernährungsmodifikationen infolge oligodynamischer Einflüsse vorliegen, verdiente weiter verfolgt zu werden.

§ 356. **Infektiosität, Angriffsstoffe und andere Impfstoffe.** Kaum eine Eigenschaft der Mikroben ist so leicht zu beeinflussen bzw. so veränderlich, wie die Fähigkeit, im lebenden Tierkörper zu wachsen, die sogenannte Virulenz (Infektiosität § 51) und die damit zusammenhängende Bildung der Angriffsstoffe (§ 319 ff.), sowie die der übrigen Impfstoffe (§ 334 ff.), die anscheinend nichts unmittelbar mit der Virulenz zu tun haben. Die ausführliche Besprechung der bisher beobachteten Abänderungen wird zweckmäßiger verbunden mit der Darstellung der allgemeinen Erscheinungen der Infektion und der sogenannten Immunisierungsverfahren (vgl. Infektions- und Immunitätslehre). Bemerkt wurde aber schon (§ 330), daß die hauptsächlichsten Methoden zur Erzielung von Abänderungen auch hier in Frage kommen: erstens die Benutzung schädigender, physikalischer und chemischer Einflüsse, wie Hitze, Trockenheit, Druck, Belichtung, Elektrizität, entwicklungs-

hemmender Stoffe, die künstlich zu den Mikroben zugesetzt werden oder freiwillig in alten Kulturen entstehen, zweitens die *Anpassung*¹⁾, sei es nun an saprophytische, sei es an parasitäre Bedingungen. Hierzu gehört z. B. die von uns a. a. O. schon besprochene Angewöhnung an Alexine und Immunkörper im Reagensglas, ferner die gerade bei Protozoen (Malariaplasmodien, Piroplasmen, Trypanosomen und Spirochäten) sehr häufige, aber auch bei Typhusbazillen, Meningokokken, Gonokokken und anderen Bakterien beobachtete beschränkte Anpassung an den Tierkörper, die sich in den sogenannten latenten Infektionen des Blutes, der Gallen- und Harnblase, des Rachens, der Harnröhre, der Erscheinung der sog. Keim- oder Bazillenträger äußert. Die Beurteilung der Veränderungen, die an den Infektionserregern selbst dabei vor sich gehen, wird dadurch erschwert, daß sehr gewöhnlich während der Infektion auch der Tierkörper¹⁾ sich an die Parasiten anpaßt (§ 52 u. 53). Drittens ist auch die freiwillige, scheinbar plötzliche Veränderung, die sogenannte *Mutation*, beobachtet und praktisch benutzt worden. Während der erstere Weg gewöhnlich, wenn auch nicht immer (S. 1068) zu einer Abschwächung der Virulenz führt, erhält man durch Anpassung und Mutation bald Abschwächung, bald Verstärkung.

Wie es nicht zu bezweifeln ist, daß man auf dem einen oder anderen Wege von infektiösen Mikroben Rassen erziehen kann, die ihre Virulenz völlig verloren haben und also die Merkmale von echten Saprophyten besitzen, so haben wir auch gewisse Anhaltspunkte dafür, daß man sogenannte *Saprophyten* soweit verändern kann, daß sie als Infektionserreger erscheinen. Am leichtesten gelingt die Erziehung zu pflanzlichen Parasiten (Vincent²⁾, Laurent³⁾, Lepoutre⁴⁾), vielleicht deswegen, weil die Widerstände des lebenden Gewebes hier weniger groß sind. Damit stimmt ja auch überein die Tatsache, daß die Pflanzenparasiten die nächste Verwandtschaft mit Saprophyten haben⁵⁾. Aus demselben Grunde würden dann auch für niedere Tiere und Kaltblüter Saprophyten, z. B. phosphoreszierende und andere Wasserbazillen, Heubakterien, leichter zu Parasiten werden⁵⁾. Man hat aber durch Versuche an

1) Vgl. auch Eisenberg, Zentr. Bakt. 45, 1907. Über Veränderlichkeit anderer Antigene s. § 330 und bei Altmann und Rauth. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 7, 1910. Über Mutation von solchen s. unsere Erfahrungen, Zeitschr. Hyg. 57, 480.

2) Annal. Pasteur 1898, 12.

3) Ebenda 1899.

4) Ebenda 1902.

5) S. z. B. Lambotte ebenda 1902. Vgl. § 74 u. 309.

höheren warmblütigen Tieren gezeigt, daß manche gewöhnliche Saprophyten, wie Heubazillen und Prodigiosus, für diese in gewissem Grade infektiös werden können. Scharfe Grenzen zwischen Parasiten und Saprophyten bestehen eben nirgends, die Fähigkeit, Aggressine zu bilden, ist ebenso weit verbreitet, wie die andere Antigene zu bilden.

Einige weitere Bemerkungen über Veränderungen der Virulenz unter natürlichen Bedingungen geben wir im nächsten Abschnitt.

§ 357. **Natürliche Abarten¹⁾ und Arten.** Es ist von vornherein zu erwarten, daß die natürliche Züchtung in ähnlicher Weise Abarten erzeugen wird, wie die künstliche. Die Erfahrung hat das auch immer mehr bestätigt. Hier sollen nur einige Beispiele dafür angeführt werden.

Besonders groß ist die Zahl der Varietäten des *Pneumococcus* (*Strept. lanceolatus*). Durch Vergleich von 84 frisch isolierten Stämmen desselben haben Kruse und Pansini²⁾ festgestellt, daß sie sich nicht nur in ihrem pathogenen, sondern auch in morphologischen und physiologischen Charakteren voneinander vielfach unterscheiden. Scharfe Grenzen zwischen den einzelnen Spielarten aufzustellen ist nicht möglich, da alle Übergänge zwischen ihnen vorkommen. Die Züchtung unter gleichen Bedingungen brachte die Abweichungen, auch die Neigung, bazilläre Formen zu bilden, zum großen Teil zum Verschwinden, wobei der ursprüngliche Typus verschwand und eine immer deutlichere Annäherung an den *Streptococcus pyogenes* eintrat (vgl. S. 286, 1129 u. 1141). Dieser letztere bietet nach Pasquale³⁾ u. a. ähnliche Verhältnisse dar, desgleichen nach Kruse (S. 286) der dritte im Bunde, der *Streptococcus lacticus* (*Enterococcus*). Dabei sind diese drei Arten selbst wieder durch zahlreiche Übergänge miteinander und auch mit den verflüssigenden und streng anaëroben Streptokokken (S. 1147) verbunden, so daß man im einzelnen Falle oft schwer sagen kann, zu welcher Art man einen Streptococcus rechnen soll. Auch Übergänge zu den „langen Milchsäurebazillen“ (s. u.) kommen vor. Eine ebenfalls veränderliche Art ist die des *Staphylococcus pyogenes*, dessen gefärbte Varietäten ja schon z. T. in einander übergeführt wurden (S. 1150), und der auch von den saprophytischen Staphylokokken der Haut, Schleimhäute und Außenwelt nicht scharf zu trennen ist (vgl. S. 996).

Sehr wahrscheinlich ist es, daß es unter den infektionstüchtigen Meningo- und Gonokokken unschuldige Spielarten gibt, nicht zu reden von denjenigen „Pseudomeningokokken“, die sich schon durch die Reaktionen in Zuckernährböden von ihnen trennen lassen (S. 349).

1) Im folgenden ist, wie in den vorhergehenden Abschnitten, nicht unterschieden worden zwischen Abarten, Varietäten, Spielarten, Rassen.

2) Zeitschr. f. Hyg. 11, 1891.

3) Zieglers Beitr. 12, 1893.

Unter den sporenbildenden Bazillen sind die Aërobier meist untereinander so nahe verwandt, daß man die herkömmliche Scheidung in *Bac. subtilis*, *mesentericus*, *mycoides* usw. kaum mit Sicherheit durchführen kann. Selbst das Vorhandensein oder Fehlen der Geißeln ist ja auch nicht mehr als ein unveränderliches Merkmal zu betrachten (s. o. S. 1135). Der Milzbrandbazillus scheint durch seine Pathogenität allerdings gut charakterisiert; diese wechselt übrigens, wie wir selbst gegenüber entgegengesetzten Behauptungen feststellen müssen, auch unter natürlichen Bedingungen recht bedeutend. Auch das Vorkommen ganz avirulenten Milzbrands ist mehrfach behauptet worden, teils auf Grund der sonst übereinstimmenden Merkmale, teils weil mit diesen Kulturen gegen Milzbrand immunisiert werden konnte (H ü p p e und W o o d ¹⁾, C h a u v e a u und P h i s a l i x). Die Sache bleibt zweifelhaft, aber die Möglichkeit erheblicher Abänderungen, auch nach der kulturellen Seite hin, ist nach den Erfahrungen, die man an Laboratoriumskulturen gemacht hat, kaum zu bestreiten. Auf die früher öfter als charakteristisch hingestellte Art der Sporenbildung und Keimung ist wohl nicht allzuviel zu geben (S. 417, Anm. 2 und S. 1134).

Den meisten Untersuchern ist, wie wir schon oft in diesem Kapitel sahen, die große Veränderlichkeit der sporenbildenden Anaërobier, insbesondere aus der Gruppe der Buttersäure- und Rauschbrandbazillen, aufgefallen, sie wird auch von B r e d e m a n n (§ 113) zugegeben, dem es freilich gelungen ist, die ursprünglich bei seinen zahlreichen Stämmen vorhandenen Unterschiede durch entsprechende Behandlung und darauf folgende systematische Kultur in den gleichen Nährböden auf einen und denselben Typus, den des *Bac. amylobacter*, zurückzuführen.

Als eine natürliche Gruppe, deren Mitglieder aber unter sich wesentlich in physiologischer Beziehung viele Unterschiede zeigen, ist zu betrachten die der „langen Milchsäurebazillen“, die unter dem Namen des *Bac. acidophilus*, *bifidus*, *vaginalis*, der Boas-Opplerschen Bazillen auf den menschlichen Schleimhäuten, als *Bac. acidificans longissimus*, *Delbrückii*, *lactis acidii*, *bulgaricus*, *Lindneri*, *Saccharobac. Pastorianus* usw. in gärenden Flüssigkeiten vorkommen (S. 287, s. auch oben *Str. lacticus*).

Ebenfalls der Hauptsache nach saprophytische Arten von großer Variabilität sind der *Proteus*bazillus H a u s e r (*Bact. vulgare* L e h m a n n und N e u m a n n), und *Bac. cloacae* J o r d a n, der *Bac. fluorescens liquefaciens* (einschließlich des *Pyocyanus*) und *non liquefaciens* und selbst der *Prodigosus* ²⁾, der *Bac. faecalis alcaligenes* P e t r u s c h k y s ³⁾, zu denen wahrscheinlich der *Bac. lactis innocuus* K r u s e s und *aquatilis sulcatus* W e i c h s e l b a u m s gehören und die nur künstlich zu trennende Gruppe des *Bact. coli (commune)* und des *Bact. (lac-*

1) Berl. klin. Woch. 1889. 16.

2) Vgl. L u c k h a r d t, Freiburger med. Dissert. 1901, H e f f e r a n, Zentr. Bakt. 2. Abt. 11, 1903 und 1. Abt. 41, 1906; B e r t a r e l l i, Zentr. Bakt. 1. Abt. 34, 1903.

3) Vgl. K l i m e n k o, Zentr. Bakt. 43. 755, 1907.

tis) aërogenes Escherich. Auch an Übergängen zwischen diesen Arten mangelt es nicht¹⁾).

Mit den letzten beiden Gruppen kommen wir zu den pathogenen des Typhus- und der Dysenterie-, des Paratyphus- und der Pseudodysenteriebazillen. Die beiden ersteren Arten sind weniger der Veränderlichkeit ausgesetzt als die letzteren, indessen kommen auch bei ihnen natürliche Spielarten vor, die sich z. B. durch Beweglichkeit, Körperform, Giftigkeit, Aggressivität und andere antigene Eigenschaften (§ 330) voneinander unterscheiden. Bei den Paratyphus- und Pseudodysenteriebazillen sind derartige Spielarten so beständig, daß man geglaubt hat, sie mit besonderen Unternamen (am besten mit den Buchstaben A, B usw.) bezeichnen zu müssen. Wenigstens bei den Pseudodysenteriebazillen scheint diese Beständigkeit aber nicht immer vorhanden zu sein, so daß man in einer und derselben Epidemie verschiedene dieser Rassen nebeneinander antrifft. Namentlich in sporadischen Fällen findet man abweichende Typen²⁾. Das erinnert daran, daß auch gerade die am meisten atypischen Typhus-, Pest- und Cholerakulturen (s. u.) von vereinzeltten Fällen oder aber von sogenannten Bazillenträgern stammen.

Durch ihre verhältnismäßige Abgeschlossenheit gegenüber anderen Arten und zugleich durch die Anpassungsformen, die sie in den einzelnen Tierarten annehmen, zeichnen sich aus die Bazillen der hämorrhagischen Septizämie Hüppes, von denen wir freilich jetzt als wesentlich verschieden die der Hogcholera- (Paratyphus-)Bazillen abtrennen müssen. Kleinere Unterschiede bestehen übrigens auch hier bei einer und derselben Unterart, z. B. unterscheidet Klein³⁾ bei den Pestbazillen die „Menschenpest“ mit längeren, von der „Rattenpest“ mit eiförmigen Stäbchen, und Gottschlich⁴⁾ züchtete aus chronischen Pestfällen atypische Bazillen. Ja wenn wir in der Geschichte zurückgehen, so finden wir in dem „schwarzen Tod“ des 14. Jahrhunderts eine Pestepidemie, die so sehr von den heutzutage gewöhnlichen abweicht, daß wir das vielleicht auf qualitative nicht bloß quantitative Änderungen der Virulenz zurückführen dürfen. Eine Analogie ist vielleicht gegeben in einer Beobachtung Martinis⁵⁾, nach der es möglich wäre, auf dem Wege des Tierversuches eine Spielart des Pestbazillus zu erzeugen, die vorzüglich zum Wachstum in den Lungen geeignet ist.

Die hämoglobino-philinen Bazillen der Influenza-gruppe bilden ebenfalls eine sehr natürliche und geschlossene Art, ja

1) Vgl. hierzu Kruse in Flügges Mikroorg. 3. Aufl. 2. Bd. 1896 und Lehmann und Neumann, Grundriß, 4. Aufl. 1907.

2) Vgl. Kruse, Deutsch. med. Woch. 1907. 8.

3) Vgl. Klein, Report Medic. offic. Local Government board, 1904, Nr. 32.

4) Zentr. Bakt. Refer. 38 Beiheft S. 100, 1906; vgl. auch Shibayama, Zentr. Bakt. 38.

5) Klin. Jahrb. 9.

wir können hier vorläufig trotz dem Vorkommen mancher morphologischen Abänderungen, die aber nicht beständig zu sein scheinen („Pseudoinfluenza“) selbst durch die üblichen Serumreaktionen keine Einteilung in Unterarten durchführen, obwohl wir durch die eigentümliche Verbreitung der Bazillen und die Berücksichtigung der epidemiologischen Verhältnisse gezwungen sind, das Bestehen von solchen neben den eigentlichen Influenzabazillen anzunehmen.

Engste Beziehungen bestehen ebenso zwischen den Bazillen des Schweinerotlaufs, der Mäusesepsizämie und des Erysipeloids (F. J. Rosenbach¹⁾), ohne daß man doch imstande wäre, sie vollständig miteinander zu identifizieren.

Lange bekannt sind Spielarten der Rotz- und Diphtheriebazillen. Bei der letzteren ergeben sich aus den Schwankungen der Tiervirulenz, der Form und Färbbarkeit (Polkörner) sogar erhebliche Schwierigkeiten für die Trennung der Erreger der Diphtherie von den mehr oder weniger harmlosen Pseudodiphtherie- und Xerosebazillen. Selbst in einer und derselben Epidemie findet man, wie bei der Pseudodysenterie, gelegentlich verschiedene Typen²⁾.

Von den Unterarten oder Rassen der Tuberkelbazillen haben wir schon gesprochen (S. 1143).

Selbst die epidemiologisch so gut charakterisierte asiatische Cholera zeigt gewisse Unterschiede in der Beschaffenheit ihrer Erreger, wenn diese auch über gewisse Grenzen nicht hinauszugehen scheinen³⁾. Am auffälligsten sind die Schwankungen in der Giftproduktion namentlich in der Bildung der ohne Inkubation wirksamen Toxine (§ 284) und Hämolysine (vgl. Vibrio El-Tor S. 1001).

Bei den Strahlenpilzen scheinen ebenfalls natürliche Spielarten vorzukommen, jedoch ist die Feststellung der Tatsache dadurch bisher erschwert gewesen, daß man sich gewöhnt hat, von einer einzigen Aktinomykose der Rinder und der Menschen zu sprechen, ohne die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß bei jeder Tierart mehrere Arten dasselbe Krankheitsbild hervorrufen können.

Das Vorkommen zahlreicher natürlicher Varietäten mit abweichenden Formen, Wachstumsweisen und Leistungen unter den Hefen ist seit Hansens Forschungen eine Tatsache, mit der die Brauereitechnik zu rechnen versteht (§ 86, 94—96). Eine Abgrenzung der Arten wird dadurch sehr erschwert.

Unter den Schimmelpilzen ist ähnliches bekannt, z. B. von den Favuserregern (vgl. Plaut S. 1150 Anm.).

Die noch zweifelhafte Frage nach der Artzusammengehörigkeit der Malaria parasiten haben wir schon früher gestreift (S. 1132). Sehr in die Augen fällt aber die Anpassungsfähigkeit

1) Zeitschr. f. Hyg. 63, 1909.

2) Zupnik, Prag. med. Woch. 1902. 30—34, Schick und Ersetzig Wien. klin. Woch. 1903. 35.

3) Kolle und Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg. 44; Bürgers. Hyg. Rundschau 1910. 4.

anderer Protozoen, namentlich der Trypanosomen an verschiedene Tierarten. Ebenso sind Virulenzschwankungen bei Spirochäten allgemein anerkannt. Besonders bemerkenswert sind die der *Spir. pallida*. Die historische wie die geographische Pathologie der Syphilis spricht dafür, daß beträchtliche Abänderungen dieser Krankheit vorgekommen sind und noch bestehen. Sie allein durch Veränderlichkeit der Krankheitserreger zu erklären, dünkt uns freilich völlig unmöglich. Das betrifft namentlich auch die Nachkrankheiten der Syphilis, wie Tabes und Paralyse¹⁾.

Auch die ganz unbekannten oder als filterbare Virus bzw. Chlamydozoen bezeichneten Erreger vieler Infektionskrankheiten verändern, wie epidemiologische Beobachtungen beweisen, ihre Virulenz sowohl nach der quantitativen als qualitativen Seite hin. Das wichtigste Beispiel dafür bietet die Umwandlung der Menschenpocken in das Kuhpockenvirus, die durch natürliche Übertragung ebenso möglich ist wie durch künstliche.

§ 358. Entstehen und Verschwinden von Krankheitserregern in der Geschichte. Viel umstrittener als die Veränderungen von Krankheitserregern nach Ort und Zeit, für die wir im vorstehenden manche Beispiele gebracht, sind bei den Infektionserregern folgende Fragen, die wir hier wenigstens kurz berühren müssen: erstens fragt man, ob — in geschichtlicher Zeit — Infektionskrankheiten bzw. Epidemien selbständig, d. h. ohne Beziehung zu früherem Vorkommen („autochthon“), entstanden sind und noch entstehen, zweitens, ob sie umgekehrt auch freiwillig verschwinden, d. h. für immer vergehen oder wenigstens zeitweise sich gewissermaßen erschöpfen können.

Von vornherein besteht natürlich die erstere Möglichkeit zu Recht, das entbindet uns aber nicht, für jeden einzelnen Fall die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens zu prüfen.

Das Auftreten der asiatischen Cholera im 19. Jahrhundert wird man am ehesten geneigt sein, so zu erklären²⁾. Strenge Beweise dafür haben wir aber nicht. Weit besser begründet erscheint uns aber die Annahme, daß noch heutzutage und allenthalben andere Infektionskrankheiten entstehen, so der Schweinerotlauf, die einzelnen Formen der hämorrhagischen Septikämie und vor allem die Pneumonie. Ein Recht dazu gibt uns das Vorkommen mehr oder weniger, manchmal auch gar nicht abgeschwächter Erreger in der Außenwelt oder auf der Schleimhaut der gesunden Tiere selbst, und daneben die epidemiologische

1) Näheres in der Infektionslehre.

2) Vgl. R. Pfeiffer, Neufeld und Bürgers in der Erörterung über Cholera auf d. Naturf. Versamml. in Königsberg 1910. 28. Abteil.

Erfahrung, d. h. die Unmöglichkeit, manche der betreffenden Krankheits- und Seuchenausbrüche auf frühere Vorkommen zurückzuführen. In letzterer Beziehung wird man freilich nicht vorsichtig genug sein dürfen, wie das Beispiel des Typhus uns gelehrt hat, bei dem heutzutage nach der Entdeckung der Bazillenträger wohl niemand mehr so kaltblütig wie früher seine autochthone Entstehung zulassen wird. Das „Wildwerden“ des Colonbazillus und seine Umwandlung in Typhusbazillen ist für uns nach wie vor eine Vorstellung, die uns ebenso abenteuerlich vorkommt, wie die „Verkrümmung“ desselben Bazillus zur Kommaform und seine Verwandlung in den Cholerabazillus. Auch ein Übergang der Pseudodiphtheriebazillen in die Diphtheriebazillen vorauszusetzen, geben uns die Tatsachen bisher kein Recht. Aber mindestens bei der menschlichen Pneumonie liegen die Dinge denn doch so, daß man sie ganz allgemein als „Selbstinfektion“ gelten lassen muß (vgl. Infektionslehre). Das schließt natürlich nicht aus, daß unter günstigen Umständen eine selbständige Pneumonieinfektion der Ausgangspunkt für andere, für eine Epidemie werden kann. Besonders im kindlichen Alter wird man eine derartige nachträgliche Ausbreitung auch bei anderen Selbstinfektionen, z. B. vom Darmkanal, nicht für unwahrscheinlich halten dürfen. Das wird ja auch von der durch Colibazillen verursachten Kälberruhr C. O. Jensen mit gutem Grund behauptet.

Das freiwillige Aussterben einer Infektionskrankheit, ist ein Fall, dessen Vorkommen bisher nur ausnahmsweise¹⁾ festgestellt worden ist. Er ist auch deswegen nicht wahrscheinlich, weil die Voraussetzung dafür wäre, daß die doch an verschiedenen Orten in größeren Mengen verbreiteten Erreger annähernd gleichzeitig durch Mutation eine Verringerung ihrer Virulenz erführen. Auch das Aussterben der Arten innerhalb geologischer Epochen pflegt man ja im wesentlichen durch die Ungunst der Verhältnisse, den „Kampf ums Dasein“ zu begründen. Trotzdem ist man mehrfach geneigt gewesen, für das allmähliche oder plötzliche Verschwinden von Epidemien eine wenn auch nur zeitweilige „Erschöpfung“ des Virus verantwortlich zu machen.

In der Tat könnte man dafür gewisse experimentelle Erfahrungen als Analogien anführen, so soll, um andere zweifelhafte oder widerlegte Ergebnisse zu übergehen²⁾, die fortgesetzte Übertragung von Hühnerspirochäten auf Hühner (Salimbeni und Marchoux, Levaditi), die der Maul- und Klauenseuche von Ferkel auf Ferkel

1) Dahin gehört der sog. englische Schweiß, der nur von 1486—1551 epidemisch beobachtet worden ist. Sehr nahe steht ihm allerdings der Schweißfriesel, der seit der Mitte des 17. Jahrhunderts bekannt ist. Vgl. Hirsch Handb. d. histor. geogr. Pathol. 1. 61, 1881.

2) Die indische Pestkommission widerlegte z. B. die Behauptung, daß die Pest durch Übertragung von Ratte auf Ratte an Virulenz einbüße (Journ. of hyg. 1906. 496).

(Löffler) und selbst die der Kuhpocken von Kalb auf Kalb¹⁾ schließlich deren Infektiosität (auch für dieselben Tiere) herabsetzen. Um sie zu erhalten, ist es nötig, mit dem Tier zu wechseln, z. B. die Spirochäten auf ihre niederen Wirte²⁾, die Maul- und Klauenseuche auf Rinder³⁾, die Kuhpocken auf Menschen zu überpflanzen. Die Übertragung der Infektion des Küstenfiebers gelingt sogar sicher nicht, wenn man die Piroplasmen vom ersten infizierten Rind auf ein zweites Rind verimpft, der Keim muß vielmehr hier erst wieder auf Zecken übergehen, um seine Virulenz wiederzuerlangen (R. Koch). Trotz diesen Beispielen wird man sich hüten müssen, daraus weitgehende Schlüsse auf die Verhältnisse bei anderen Infektionserregern zu ziehen und etwa für Typhus, Cholera, Ruhr und Pest, wie man es früher häufig getan hat, die Notwendigkeit eines „saprophytischen Stadiums“ zur Forterhaltung oder Wiederbelebung der Virulenz anzunehmen.

§ 359. Einteilung und Abstammung der Mikroben. Die Richtung, in der sich die natürlichen und künstlichen Abänderungen der Mikroben bewegen, sind geeignet, uns über die verwandtschaftlichen Beziehungen der einzelnen Arten aufzuklären und uns so die Aufstellung eines natürlichen Systems der Mikroorganismen zu erleichtern. Immerhin sind wir noch weit von diesem Ziel entfernt. Keinem Zweifel unterliegt es allerdings, daß die Unterteilung der Mikroben in die drei Klassen der Bakterien (Schizomyzeten), Pilze und Protozoen, ferner die der Bakterien in Kokken, Bazillen und Spirillen berechtigt ist. Auch die Zugehörigkeit der Sproßpilze zu den fadenbildenden Pilzen ist längst anerkannt, und deren System sowie das der Protozoen in den Grundzügen festgestellt. Durch neuere Forschungen erscheint freilich die selbständige Stellung der Sporozoen und namentlich ihre Unterordnung, der Hämosporidien, immer mehr bedroht. Wir gehen auf die wegen ungenügender Beobachtungen noch im Fluß befindliche Frage hier nicht weiter ein, sondern beschränken uns im folgenden auf die verwandtschaftlichen Beziehungen der Bakterien zueinander und zu den ihnen nahestehenden Klassen. Man darf wohl sagen, daß nach drei Richtungen, nämlich nach den Algen, den Pilzen und den Protozoen hin Verwandtschaften bestehen.

Die Schizophyzeen (Phykokchromazeen) hatte schon F. Cohn mit den Bakterien (Schizomyzeten Nägelis) zu einer Gruppe der

1) Die Entartung der huminisierten, d. h. von Mensch auf Mensch fortgepflanzten Lymphe wird dagegen wohl mit Recht bestritten. Mindestens ist sie nicht nötig (vgl. Paul in Kraus und Levaditis Handb. 1. 595 ff., 1908).

2) Marchoux, Soc. biol. 12. X. 1907.

3) Löffler, Deutsch. med. Woch. 1906. 31.

Schizophyten oder Spaltpflanzen vereinigt und die einzelnen Gattungen derselben miteinander in Parallele gestellt¹⁾. Das Fehlen der Zellkerne, das trotz den immer wieder gemachten Versuchen, das Gegenteil zu beweisen, bei beiden Klassen als sicher betrachtet werden kann (Kap. I), die gleichen Formen bei beiden, die Teilung durch Spaltung läßt allerdings deutlich ihre Verwandtschaft erkennen. Unterschiede bestehen vor allem in der Kleinheit der Zellen, dem Fehlen von Chlorophyll und Phykozyan, dem Vorhandensein von Sporen und Geißeln bei den Bakterien, in der Zusammensetzung ihrer Membran und ihrer Ernährungsweise. Manche gewöhnlich zu den Bakterien gestellte Wesen, die Beggiatoen und andere farblose Schwefelbakterien (§ 208), ferner die roten Schwefel- und Purpurbakterien (§ 209), die Leptothrix, Cladothrix, Phragmidiothrix, Gallionella usw. (vgl. Eisenbakterien § 216), anscheinend auch das Azotobacter (S. 630 ff.), stehen den Spaltalgen durch Größe, Polymorphismus und zum Teil wenigstens durch das Vorhandensein einer Art von Zentralkörper (Bütschli S. 47, Anm. 2), sowie einer Beweglichkeit ohne Geißeln noch näher. Wir möchten vorschlagen, sie geradezu Phykobakterien²⁾ (Algenbakterien) zu nennen, von ihnen aber als besondere Unterordnungen die farblosen Schwefelbakterien und Purpurbakterien abzutrennen.

Durch den Besitz eines chlorophyllgrünen Farbstoffes den Algen, in ihren übrigen Eigenschaften aber völlig den Bakterien verwandt, erscheinen die noch wenig bekannten Chlorophyllbakterien (grüne Bakterien S. 779).

Es fragt sich nun freilich, ob man es hier überall mit natürlichen, von den eigentlichen Bakterien in ihrer Entwicklung unabhängigen Abteilungen zu tun hat. Wenn wir von den Phykochromazeen annehmen, daß sie mit den Bakterien eine einfache, etwa kokkoide Urform gemeinsam haben, sich aber von dieser aus unabhängig — wenn auch mit auffälligem Parallelismus der Form — weiter entwickelt haben, so könnten wir das auch von den Purpurbakterien, die ja einen ähnlichen Formenkreis durchlaufen und von den (farblosen) Schwefelbakterien und Chlorophyllbakterien, bei denen durch neuere Untersuchungen die gleiche Mannigfaltigkeit der Formen immer wahrscheinlicher wird, ebenfalls zugeben. Eine Schwierigkeit besteht freilich insofern, als es schwefelhaltige und nicht schwefelhaltige Purpurbakterien gibt, und damit auch nähere Beziehungen der farblosen und gefärbten Schwefelbakterien nicht

1) Vgl. auch O. Kirchner, Schizophyteen in Engler-Prantl, Pflanzenfamilien 1. Abt. 1898.

2) Die Migulasche Bezeichnung Chlamydobakterien paßt nicht, weil eine Scheide oft fehlt. Die Strahlenpilze, die Migula zu ihnen stellt, haben gar nichts mit ihnen zu tun (s. weiter unten im Text).

unwahrscheinlich sind. Bei den Phykobakterien überwiegen bisher die langgestreckten und polymorphen Arten so sehr, daß man geneigt sein könnte, sie von echten Bazillen abzuleiten, immerhin ist es möglich, daß auch sie sich in einer fünften parallelen Reihe von derselben Stammform aus entwickelt haben. Vielleicht gehört das *Azotobakter chroococcum*, die Nitrobakterien *Winogradskys* (§ 196) und das *Achromatium Schewiakoffs*¹⁾ sowie gewisse große Spirillen zu derselben Entwicklungsreihe. Uns scheint es vorläufig näher zu liegen, bei den genannten Unterordnungen einen solchen Parallelismus anzunehmen, als voraussetzen, daß die einzelnen Bakterienformen (Kokken, Bazillen, Spirillen) etwa durch eine in der gleichen Richtung sich bewegende „Mutation“ in Schwefel-, Purpur-, Chlorophyll- und Algenbakterien sich verwandelt, oder daß Spaltalgen sich zu Algenbakterien zurückgebildet haben.

Die verwandtschaftlichen Beziehungen der Bakterien zu den Pilzen werden vor allem durch die Familie der Strahlenpilze (Aktinomyzeten, früher vielfach *Streptotricheen* genannt) begründet. Die Ähnlichkeit der letzteren mit Fadenpilzen ist wegen ihres myzelartigen Wachstums mit echten Verzweigungen, der Ausbildung von Conidien, Lufthyphen u. dgl. nicht zu verkennen. Andererseits sind sie durch eine ganze Reihe von Zwischengliedern mit den Tuberkel-, Diphtherie-, Rotz- und Rotlaufbazillen verbunden²⁾, und von den Fadenpilzen durch wichtige Merkmale, ihre Kleinheit und vor allem die ganze Struktur ihres Zelleibes geschieden. Deswegen ist es unseres Erachtens unrichtig, mit *Lehmann* und *Neumann* hier von einer „Hyphomyzetenfamilie“ zu sprechen. Die Ähnlichkeit mit den Hyphomyzeten ist vielmehr, wie ich früher schon gezeigt habe³⁾, nur eine äußerliche, oder, um die Beziehungen beider auszudrücken, die Wahrscheinlichkeit, daß die Stammesgeschichte der echten Pilze durch die Strahlenpilze hindurch auf diese Bakterien (Bazillen) zurückführt, erscheint mir gering. Man würde, um diese Beziehungen auszudrücken, die Familie der Strahlenpilze samt den Tuberkel- und Diphtheriebazillen usw. besser unter dem Namen der *Mykobakterien*⁴⁾ zusammenfassen.

Wenn wir auch vorläufig ein Recht haben, die echten Pilze von einer bakterienähnlichen Urform herzuleiten, weil die Bakterien die einfachsten bisher bekannten Lebewesen sind, so haben sie sich doch wahrscheinlich unabhängig, wenn auch in auffällig paralleler Formenreihe, mit den Strahlenpilzen entwickelt.

1) S. bei *Migula*, System der Bakterien 2. Bd. 1037, 1900.

2) S. bei *Kruse* in *Flügg's Mikroorganismen* 2. Bd.

3) a. a. O. S. 50.

4) Bei *Lehmann* und *Neumann* ist *Mycobacterium* ein Gattungsname für die säurefesten Bazillen.

Eine weitere Ähnlichkeit wäre nach *M i g u l a* ¹⁾ in der Sporenbildung von *Saccharomyces* und Bakterien, sowie in der Zellteilung von *Schizosaccharomyces* und Bakterien gegeben. Man kann das zugestehen, ohne daraus verwandtschaftliche Beziehungen herzuleiten. Die Unterschiede zwischen den Sproßpilzen und Bakterien sind denn doch zu groß — man denke an Sprossung, Membran und Zellkerne bei den ersteren — und die Verwandtschaft zwischen Sproß- und anderen Pilzen zu eng.

Erst recht können wir uns mit den in älterer und neuerer Zeit gemachten Versuchen nicht befreunden, die Bakterien als entartete Pilze²⁾ zu betrachten, die Bazillen als „Oidien“, die hin und wieder bei allen möglichen Bakterien beobachteten Verzweigungen als Rückschläge auf pilzartige Zustände zu bezeichnen (*A. M e y e r* ³⁾). Gelegentlich ist ja nichts einzuwenden gegen die Zurückführung einfacher auf verwickelte Formen, es liegt aber kein Grund dafür vor, es bei einer unter so verschiedenen Bedingungen so weit verbreiteten und in so frühen Zeiten vorkommenden Abteilung von Organismen zu tun. Und vor allem, wo sollen wir denn diese Urformen für die höheren Organismen suchen, wenn nicht bei den niederen? Ein früher dagegen angeführter Grund, die saprophytische Lebensweise der Bakterien habe als Voraussetzung das Vorhandensein organischer Substanz, ist nicht mehr stichhaltig, seitdem wir wissen, wieviel Bakterien von den einfachsten Stoffen, zum Teil sogar rein mineralischen Stoffen (vgl. S. 120) sich nähren können. Selbstverständlich ist durch die Annahme, daß wir es in den Bakterien mit den niedersten Wesen zu tun haben, von deren Stammform aus die höheren sich vielleicht sämtlich entwickelt haben, nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, daß sie sich bis in die Jetztzeit hinein auch in ihrem eigenen Kreis fortentwickelt haben.

Die Ähnlichkeit der Bakterien mit Protozoen ist schon lange aufgefallen.

Namentlich die Form, Sporen- und Geißelbildung ist es, die sie an die Seite der Flagellaten zu stellen scheint. Auch die endogenen Sporen der Bakterien hat man in den Zysten der *Monas guttula* und *Chromulina nebulosa* wiederfinden wollen. Sieht man sich die Dinge näher an, so findet man freilich genug Unterschiede. Vor allem fehlt die höhere Organisation der stets kernhaltigen Protozoen den Bakterien. Wert hat man auch gelegt auf die Verhältnisse der Membran, durch die sich die Bakterien den Pflanzen nähern sollen, und die Anheftung der Geißeln. Ob das aber berechtigt ist, möchten wir bezweifeln, die mikroskopischen Bilder, die beweisen sollen, daß die Bakteriengeißeln an der Membran endigen, nicht am Protoplasma, könnten doch auf Täuschung beruhen. Auch die Membran ist keineswegs bei allen Bakterien nachzuweisen (§ 20).

Neuerdings ist namentlich von zoologischer Seite die Verwandtschaft der Spirochäten mit den Protozoen behauptet worden. Auffallend ist freilich, abgesehen von der äußeren Ähnlichkeit durch die spiralige Drehung der Körperachse die Übereinstimmung in der Lebens-

1) *System der Bakterien* 1. 238, 1897.

2) Für andere Kleinwesen, die ebenfalls herangezogen worden sind, gilt natürlich das gleiche (vgl. *W a r d*, *Annal. of botany* 1898).

3) Vgl. *Lit.* S. 39 u. 48. Auf S. 8 Anm. 8 muß es heißen *Zentr. Bakt.* 30.

weise, nämlich die Form des Parasitismus, die oft mit Wirtswechsel verbunden ist. Aber der letztere Umstand kann um so weniger maßgebend sein, als in anderer Beziehung große Unterschiede bestehen.

Fehlen doch saprophytische Vertreter den Trypanosomen ganz, und ähneln doch auch die Immunitätsreaktionen der Spirochäten viel mehr denen der Bakterien. Auch die spiralige Form ist kein besonderes Merkmal der Trypanosomen und Spirochäten, sondern findet sich außer bei den Spirillen noch bei Purpurbakterien und Phykochromazeen. Wichtiger wäre es, wenn die Spirochäten auch mit Kernen, undulierender Membran und endständigen Geißeln versehen wären, sowie sich der Länge nach teilen, wie die Trypanosomen. Darüber ist aber leider kein Einverständnis erzielt worden. Im Gegenteil, Kerne sind überhaupt noch nicht bei Spirochäten nachgewiesen worden. Die Mehrzahl der Forscher leugnen Längsteilung und undulierende Membran bei ihnen, einige wollen sogar peritrische Begeißelung gesehen haben. Auch die von Neufeld besonders betonte Widerstandslosigkeit der Spirochäten gegen bestimmte Lösungsmittel (Galle usw.) ist vielen Bakterien eigen (§ 8 u. 13). Die Mehrzahl der Bakteriologen und auch eine Anzahl von Zoologen hält darum an der Verwandtschaft der Spirochäten mit den Spirillen, also den Bakterien fest¹⁾. Wir haben es also vielleicht auch hier wieder, wie bei Strahlenpilzen, nur mit einer Annäherung der Bakterien an die Form einer anderen Klasse, einer parallelen, aber unabhängigen Entwicklung zu tun. Wenn eine besondere Bezeichnung der Spirochäten noch nötig wäre, könnte man sie *Zoobakterien* nennen, in Analogie mit den Phyko- und Mykobakterien. Die Trennung der Spirochäten von den Trypanosomen hindert natürlich nicht, verwandtschaftliche Beziehungen zwischen ihnen bzw. zwischen Bakterien und Protozoen. Wahrscheinlich ist aber die Abzweigung der Flagellaten von den Bakterien viel früher erfolgt, entweder von der Urform oder von der Pseudomonasform (s. u.) aus.

Für die Einteilung der eigentlichen Bakterien lassen sich außer Unterschieden der Form, die zur Trennung der Kokken, Bazillen und Spirillen führen, folgende Merkmale benutzen: Erstens scheidet das Vorhandensein von einer, zwei oder drei Wachstumsrichtungen bekanntlich die Kokken in Kettenkokken (Streptokokken), Tafelkokken (Tetragenus, Merismopoedia, Micrococcus), Packetkokken (Sarzinen).

Bei vielen Arten (Gono-, Meningo-, Staphylokokken) bleibt man im Zweifel, ob sie zu den Tafel- oder Packetkokken zu rechnen sind, wohl nur deswegen, weil sie sich zu frühzeitig voneinander lösen oder gegeneinander verschieben. Ob es Kokken gibt, die nach beliebigen Richtungen wachsen und sich teilen können, die also keinen irgendwie nach Achsen geordneten Bau besitzen, ist ungewiß.

Die Bazillen und Spirillen reihen sich den Streptokokken durch ihren einachsigen Bau an.

1) Vgl. Novy und Knapp, Journ. of infect. diseases. 1906. 303; Hartmann, Zentr. Bakt. Ref. Beilage zu Bd. 42 S. 72 und Erörterung dazu S. 96 ff. Swellengrebel, Zentr. Bakt. 49. 529, 1909.

Allerdings liegen mehrere Beobachtungen vor, die eine Längsspaltung nicht nur bei Streptokokken, sondern auch bei Bazillen beweisen sollen¹⁾, aber entweder handelt es sich da um sehr seltene wirklich pleomorphe Arten (H a s h i m o t o, M a t z u s c h i t a), oder um unregelmäßige Bildungen (echte Verzweigung), die gelegentlich — als Folge abnormer Wachstumsreize? — bei einzelnen Individuen aller möglichen Bakterienarten auftreten (S. 8), oder wohl an einer nicht ganz einwandfreien Deutung des gesehenen Bildes. So habe ich selbst sicher festgestellt²⁾, daß die so oft beobachtete parallele Lage von Diphtheriebazillen dadurch entsteht, daß ein Bazillus, der sich regelmäßig quer geteilt hat, an der Teilungsstelle zusammenknickt. Vielleicht ist es bei Tuberkelbazillen³⁾ ähnlich.

An der Regel kann all das nichts ändern und darum wohl ebenso wenig an dem Schluß, daß Bazillen und Spirillen stammesgeschichtlich sich von den Streptokokken ableiten.

Ein zweites Merkmal, das man zur Einteilung viel benutzt hat, ist das Fehlen und Vorhandensein sowie die Anordnung der Geißeln. A. F i s c h e r und M i g u l a haben darauf sogar eine ganze Anzahl von Gattungen gegründet. Leider ist aber die B e w e g l i c h k e i t ein ziemlich unbeständiger Charakter bei den Bakterien (s. o. S. 1135), so daß dies Einteilungsmerkmal sehr an praktischem Wert verliert. Einen wissenschaftlichen behält es aber doch, und wenn man den Hauptwert auf die A n o r d n u n g d e r G e i ß e l n — am Pol und an den Seiten — legt, kommt man auch vielleicht zur Aussonderung einiger natürlicher Gruppen. Als eine solche möchte ich besonders bezeichnen die P s e u d o m o n a s M i g u l a s, d. h. die durch Polgeißeln gekennzeichneten sporenfreien gramnegativen Bazillen, die den Hauptteil der sogenannten Wasserbakterien, phosphoreszierenden und Pigmentbazillen (Fluorescens usw.), ausmachen und auch den Bac. faecalis alcaligenes (s. o. S. 1154) die Knöllchenbakterien und vielleicht auch einige isolierter stehende Formen umfassen.

Weniger Bedeutung hat wohl die Z a h l d e r G e i ß e l n, immerhin ist sie beständig genug, um z. B. die „monotrichen“ von den „lophotrichen“ (Messea) Spirillen zu trennen. Da die Spirillen sämtlich und auch die Spirochäten wahrscheinlich⁴⁾ sämtlich Geißeln am Pol zu besitzen scheinen, und sie auch sonst Beziehungen zu den Wasserbazillen haben.

1) Vgl. z. B. B a b e s, Zeitschr. f. Hyg. 20, 1895; S t o l z, Zentr. Bakt. 24; H a s h i m o t o, Zeitschr. f. Hyg. 31, 1899; M a t z u s c h i t a, Zentr. Bakt. 2. Abt. 9.

2) F l ü g g e s Mikroorganismen 2. Bd. S. 459, 1896.

3) Vgl. C. F r ä n k e l, Hyg. Rundschau 1900. 617 ff.

4) Vgl. C. F r ä n k e l und Z e t t n o w, Zentr. Bakt. Refer. 42 Beil. S. 96 u. 97.

leitet man sie vielleicht am besten von den Pseudomonaden ab. Vielleicht stammen auch die niedrigsten Flagellaten von Pseudomonaden und nicht von tieferstehenden kokkoiden Bakterien ab. Form und Begeißelung sind ja ähnlich genug. Das Vorkommen monadenartiger Formen bei anderen Bakterien¹⁾ spricht nicht dagegen. Diesen polgeißlichen Bakterien gegenüber stehen die seitengeißligen („peritrichen“) Bazillen der Subtilis-, Anaërobier-, Proteus-, Cloacae- und Coli-(Typhus- und Paratyphus-)Gruppe. Das Vorhandensein von unbeweglichen Sporenbildnern (z. B. Milzbrandbazillen), die dem Heubazillus offenbar nahe verwandt sind, und sporenfreien Bazillen (Aërogenes- und Dysenteriegruppe), die den Colibazillen sonst sehr nahe stehen, veranlaßt uns aber gerade hier, die Beweglichkeit als Einteilungsprinzip, nicht schematisch anzuwenden. Die Möglichkeit liegt sehr nahe, daß die unbeweglichen Bakterien ihre Beweglichkeit nur verloren haben, also von beweglichen Formen abstammen. Nicht überall sonst ist das aber anzunehmen, denn es wird z. B. kaum ein Zufall sein, daß gerade die große Mehrzahl der Kokken unbeweglich ist. Da die Ausbildung von Bewegungsorganen immerhin eine höhere Organisation voraussetzt, kann man umgekehrt daraus schließen, daß die Kokken die einfachsten Bakterien sind.

Das Sporenbildungsvermögen ist schon von de Bary und dann immer wieder für die Einteilung der Bakterien benutzt worden. Daß es ein wichtiges Merkmal darstellt und praktisch weit brauchbarer ist, als die Beweglichkeit, ist zweifellos, und wird auch dadurch nicht widerlegt, daß manche Formen die Fähigkeit, Sporen zu bilden, verlieren können (§ 347) und wahrscheinlich auch verloren haben.

Wir würden uns deshalb auch Lehmann und Neumann, welche die sporenbildenden Stäbchen in der Gattung „Bacillus“ und die nicht sporenbildenden in der zweiten „Bacterium“ vereinigen, anschließen, wenn nicht diese beiden Namen schon so oft und in ganz verschiedenem Sinne gebraucht worden wären. Unmöglich ist es dagegen, die Form, Lage und Auskeimungsart der Sporen mit H ü p p e, F i s c h e r u. a. zur weiteren Einteilung zu benutzen, da diese Eigenschaften zu unbeständig sind (S. 1154). Das wenn auch seltene Vorkommen von Sporen bei Kokken und Spirillen läßt darauf schließen, daß die Fähigkeit zur Sporenbildung an manchen Stellen der Entwicklungsreihe unabhängig entstanden ist, denn an eine stammesgeschichtliche Zusammengehörigkeit aller dieser Sporenbildner und an eine parallele Entwicklung derselben mit den übrigen nicht sporenbildenden Bakterien ist wohl kaum zu denken. Dazu ist die Eigenschaft der Sporenbildung doch zu beständig und gibt ihrem Eigentümer einen zu großen Vorteil im Kampf ums Dasein, als daß man annehmen dürfte, die sporenbildenden Zwischenglieder zwischen den jetzt bekannten Sporenbildnern wären gänzlich umgewandelt oder ausgestorben.

1) Russell, Zeitschr. f. Hyg. 11. 201.

Eine für die Einteilung der Bakterien unseres Erachtens sehr bedeutsame Eigenschaft ist ferner ihr Verhalten zur Gramschen Färbung, die ja wohl von der Zusammensetzung ihrer Leibessubstanz abhängt (§ 18). Das anzuerkennen zwingt uns die Tatsache, daß die gramfesten Bakterien auch in anderen Beziehungen sehr natürliche Gruppen bilden, wir erinnern an die Streptokokken, Staphylokokken und Sarzinen, langen Milchsäurebazillen, Heubazillen, Anaërobier und schließlich die große Masse unserer Mykobakterien (S. 1161).

Wir denken uns den Zusammenhang so, daß von den Streptokokken einerseits Staphylokokken und Sarzinen, andererseits die langen Milchsäurebazillen und von diesen letzteren erstens die Mykobakterien und zweitens die sporenbildenden Bazillen (Heubazillen und Anaërobier) sich ableiten. Da wir sahen, daß die Kokken meist¹⁾ gramfest sind, haben wir vielleicht ein Recht, dieses Merkmal ebenso wie die Unbeweglichkeit als ursprünglich vorhanden zu betrachten, und für die gramnegativen Bakterien einen nachträglichen Verlust dieser Eigenschaft anzunehmen²⁾. So würden die Meningo- und Gonokokken von den Staphylokokken, die wenigen gramnegativen Streptokokken, Heubazillen und Mykobakterien von den grampositiven Mitgliedern der betreffenden Gruppe abstammen. Die große Masse gramnegativer Bazillen könnte man dann entweder ebenfalls auf die gramnegativen Streptokokken oder auf die grampositiven „langen“ Milchsäurebazillen und die sämtlich gramnegativen Spirillen auf die schon gramnegativ gewordenen Pseudomonaden zurückzuführen. Ob eine Umwandlung von gramnegativen — ein Rückschlag — in gramfeste Formen stattgefunden hat, mag dahingestellt bleiben. Das Vorkommen einiger gramfester Kapselbazillen könnte als Beweis dafür gelten, wenn nicht diese wie die ganze Aërogenesgruppe etwa unmittelbar von den langen Milchsäurebazillen abstammen.

Daß die säurefesten Bakterien zu den Mykobakterien und zusammen gehören, wird allgemein anerkannt.

Als letztes und in praktischer Beziehung recht wichtiges Einteilungsprinzip können schließlich die biochemischen Eigenschaften gelten. Dagegen halte ich den Versuch O. Jensens³⁾, „physiologische“ Merkmale als wesentliche Unterlage für die Klassifizierung zu benutzen und die morphologischen Unterschiede dahinter

1) Nach Winslow, Systematic relationships of the Coccaceae New York 1909 sollen allerdings die meisten saprophytischen Kokken (Metacoccaceae) gramnegativ sein, nur die parasitischen (Paracoccaceae) meist grampositiv.

2) Dafür spricht z. B. die Beobachtung O m e l i a n s k y s (Zentr. Bakt. 2. Abt. 19, 1907), daß die entschieden ältere Nitrosomonas grampositiv, die Nitromonas gramnegativ ist.

3) Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems Zentr. Bakt. 2. Abt. 22, 1909. Dort auch die übrigen zahlreichen neuen Benennungen.

zurückzustellen, im allgemeinen nicht für berechtigt. Nur da, wo die Ernährungsweise so eigentümliche Abweichungen zeigt, wie bei den Purpur-, Schwefel-, Chlorophyllbakterien (s. o.), können wir mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß sich die Mannigfaltigkeit der Formen erst nachträglich entwickelt hat, also die morphologischen sekundäre Unterscheidungsmerkmale gegenüber den biochemischen sind.

Wir sind daher auch geneigt, J e n s e n zuzustimmen, wenn er die „autotrophen“, d. h. von anorganischen Kohlen- und Stickstoffverbindungen sich nährenden Bakterien (S. 109 Anm., 116 u. 120), die er, je nachdem sie Sumpfgas, Kohlenoxyd, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff oder Kohlensäure allein neben Ammoniak oder salpetriger Säure assimilieren, als M e t h a n o -, C a r b o x y d o -, H y d r o g e n o -, S u l f o -, N i t r o - und N i t r o s o m o n a s bezeichnet, von den anderen Bakterien abtrennt. Ihr bisher nur mangelhaft entwickeltes Studium erlaubt uns aber noch nicht mit Sicherheit, uns darüber auszusprechen, ob sie zusammen eine natürliche Gruppe bilden oder sich scharf voneinander unterscheiden oder Übergänge zu anderen nicht autotrophen Bakterien zeigen. Die Möglichkeit liegt doch noch vor, sie von letzteren abzuleiten, z. B. in die Nähe der Pseudomonaden zu stellen¹⁾, denn wir können uns vorstellen, daß sie wenigstens zum Teil sich erst nachträglich an die autotrophe Ernährung angepaßt haben. Wenn J e n s e n sie als die ä l t e s t e n B a k t e r i e n bzw. o r g a n i s c h e n W e s e n ü b e r h a u p t betrachtet, so ist das vielleicht richtig, aber nicht dadurch zu beweisen, daß sie sich in einer Zeit entwickelt haben müssen, wo nur anorganische Nährstoffe zur Verfügung standen. Denn ihr Erscheinen setzt doch, wenn anders wir an der Urzeugung festhalten wollen, das V o r h a n d e n s e i n o r g a n i s c h e r S t o f f e v o r a u s. Was die Gruppierung der übrigen Bakterien anlangt, so stimmt unsere eigene Auffassung vielfach, aber nicht in allen Punkten mit der J e n s e n s überein, so z. B. auch in der Trennung der pol- und seitengeißligen Formen. Bemerkenswerterweise ist die Art der Begeißlung aber gerade ein morphologisches Merkmal. Auch sonst ist J e n s e n nicht folgerichtig, denn er läßt sich durch die doch rein äußerliche Fähigkeit, Verzweigungen zu bilden, dazu verleiten, die Knöllchenbakterien (Rhizomonas) als die Stammväter der Strahlenpilze und anderer Mykobakterien, sowie der echten Pilze anzusehen. Wir halten wie gesagt im allgemeinen die biochemischen Merkmale nicht für wichtig genug, um die Grundlage der Gruppierung abzugeben. Unseres Erachtens sind die so mannigfaltigen fermentativen Fähigkeiten ihrer Anlage nach bei den allermeisten Formen verbreitet (S. 1149) und ihrespezialistische Ausbildung bei den einzelnen Arten beweist nichts gegen die Verwandtschaft dieser letzteren mit anderen ihnen morphologisch nahe stehenden Formen. So bleiben die Sproßpilze im großen und ganzen eine sehr natürliche Gruppe, obwohl nur einzelne von ihnen Alkohol erzeugen. Trotzdem sind die biochemischen Eigentümlichkeiten hin und

1) Ob die beweglichen unter ihnen alle am Pole Geißeln tragen, steht dahin, ebenso ist das Verhalten zur Gramfärbung verschieden (s. o.).

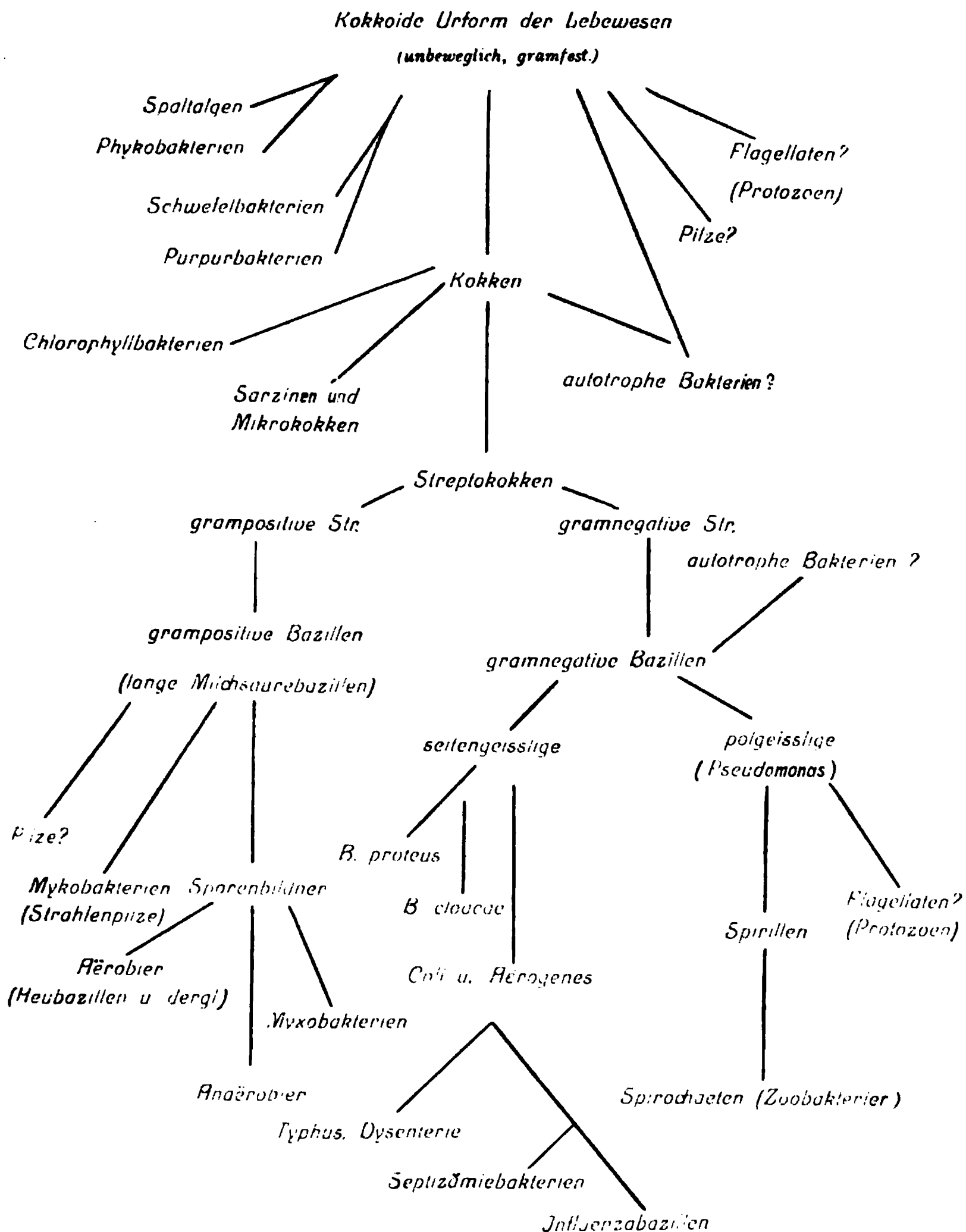
wieder als Einteilungsmerkmale zu gebrauchen. So trennt das Verhalten zum Sauerstoff die meisten sporenbildenden Aërobier (Heubazillen usw.) von den Anaërobiern, der Besitz peptonisierender Fermente die Proteus- und Cloacae-Gruppe von der Coli- und Aërogenes-Gruppe usw. Wichtiger aber ist noch, daß auch die schon durch morphologische Charaktere (s. o.) gekennzeichneten Gruppen sich durch die Gleichmäßigkeit ihrer physiologischen Merkmale oft als natürlich erweisen. So kennzeichnet sich die große Masse der Streptokokken durch ihre Fähigkeit, Milchsäuregärung zu bewirken und stimmt auch in dieser Beziehung überein mit der ihnen so verwandten Gruppe der langen Milchsäurebazillen (§ 97 u. 99). Umgekehrt scheiden sich die Heubazillen von den Anaërobiern, von anderem abgesehen, auch durch ihr Verhalten zu den Kohlenhydraten (vgl. Buttersäuregärung § 113). Auch die sonst so verschiedenen einzelnen Mitglieder der Proteus-, Cloacae-, Coli- bzw. Aërogenes-Gruppe ähneln sich darin, daß sie den Traubenzucker sämtlich in (saure) Gärung versetzen (§ 112) und stehen dadurch den Pseudomonaden geschlossen gegenüber, die gewöhnlich kein Gärvermögen besitzen. Das Gärvermögen für Kohlenhydrate treffen wir allerdings auf fast jeder Stufe der Entwicklung in beschränktem Grade an, besonders gut ausgebildet aber außer in den eben genannten Gruppen nur bei Pilzfamilien. Dagegen findet die Fähigkeit, Eiweißstoffe mit oder ohne Beihilfe peptonisierender Fermente zu zerlegen, fast in allen Gruppen ausgezeichnete Vertreter. In vielleicht etwas geringerem Grade gilt das auch von dem für das Aussehen der Kolonien immer so wichtigen Schleimbildungsvermögen (s. Schleimgärung § 128). Die durch ihre Pseudoplasmodien und großen Fruchtkörper sehr merkwürdigen Myxobakterien (S. 409) könnten sich als Sporenbildner, zumal sie sämtlich Stäbchen zu sein scheinen, von den übrigen sporenbildenden Bazillen abzuweigen.

Auch der Parasitismus, die Fähigkeit, Angriffs- und andere Impfstoffe zu bilden, kann sich in allen Klassen und Gruppen der Mikroben anscheinend unabhängig entwickeln (§ 356). Immerhin ist es wohl kein Zufall, daß die große Mehrzahl der bakteriellen Krankheitserreger zu den gramnegativen, höchstens seitengeißlig oder unbeweglichen Bazillen gehört. Obwohl sie sich meist durch mangelhafte Entwicklung fermentativer Eigenschaften auszeichnen, werden wir sie der Coli- und Aërogenes-Gruppe anschließen, zu der sie zum Teil ja (Typhus, Dysenterie) die engsten Beziehungen haben. Die große Ordnung der Sporozoen ist sogar ganz parasitisch. Vielleicht gehören zu ihnen die ebenfalls bisher nur als Parasiten gefundenen Chlamydozoen v. Pro-wa-zeks, die sog. unsichtbaren oder filtrierbaren Virus der Pocken, Schafpocken, Maul- und Klauen-, Brustseuche, Rinderpest, des Gelbfiebers, der Hühnerpest, der Hundswut, des Epithelioma contagiosum der Vögel und Menschen, des Trachoms usw. (S. 2, Anm. 2; S. 3, Anm. 1).

In folgender Übersicht machen wir den Versuch, die eben besprochenen stammesgeschichtlichen Beziehungen der Kleinwesen zusammenzufassen. Für die Abteilung der Pilze, Protozoen und einiger

kleinerer Bakteriengruppen lassen wir, wie man aus den beigegeführten Fragezeichen sieht, ausdrücklich mehrere Möglichkeiten offen. Wenn es sich machen ließe, die Übersicht im Raume, statt auf der Fläche des Papiers anzuordnen, würde man die Beziehungen natürlich noch anschaulicher gestalten können.

Stammesgeschichte der Kleinwesen.



Stichwörterverzeichnis.

Die Zahlen hinter den Stichwörtern bedeuten die Seiten, wo nicht § oder Kap. vorgesetzt ist. Eine ausführliche Inhaltsangabe der einzelnen Kapitel und Paragraphen findet sich im Inhaltsverzeichnis (vorn). Kl. ist die Abkürzung für Kleinwesen, Bac. für Bacillus, Bact. für Bacterium, Bakt. für Bakterien.

- Abschwächung** § 330, 353, 355—358.
Absorption von Farbstoffen 41, Fermenten 755, Giften 878, — Wirkung der Antitoxine 891, des Komplements 1050, der Lysinogene 1054, der Agglutinogene 1095.
Abstammung der Kl. § 359.
Abwasser, Reduktion im — 480, Reinigung und Selbstreinigung des — 570, 574.
Abwehrstoffe der Tiere 172, 1021, 1036, 1041, 1049, 1062, 1063.
Acidophilus, Bac. 288, 1154.
Äerobiose 96.
Äerogenesbazillen, Gruppe der —, als Erreger saurer Gärung § 97—112ff., ihre Unterscheidung durch Säure- und Gasbildung 346. 419. s. Kapselbazillen.
Äerotropismus 183.
Äpfelsäure, Vergärung 444.
Agglutinogene § 335—341.
Aggressine § 319—330.
Aggressinoide 1059.
Aktinomyces siehe Strahlenpilze.
Albumosen s. Proteinstoffe, giftige — s. Gifte.
Alcaligenesbazillen 393 (Anm. 1), Ammoniakbildung durch — 542, Veränderlichkeit 1128.
Aldehyde, Nebenerzeugnisse der alkoholischen Gärung 261, der Milchsäuregärung 234, der Oxydation 394, 430, 451, der Eiweißspaltung 533.
Alexine s. Abwehrstoffe.
Algen, Kolonien von — 1144, Verwandtschaft mit Bakterien 1159.
Algenbakterien 1160.
Algenpilze 79, 84.
Alinitbakterien 627.
Alkalien, Wirkung auf Kleinwesen 34, 62, 63, 66, auf Fermente 766, Gehalt der Kl. an — 86, Bedarf an — 94. Vgl. Darstellung der Gifte § 272.
Alkaloide, Ernährung mit — 112, Entstehung 462, Wirkung auf tryptische Fermente 493.
Alkohol, Ernährung mit — 116, Zersetzung der niederen — § 133 bis 136, der höheren — § 131 u. 132, Bildung von Alkohol durch Hefe und Pilze (Alkoholgärung) § 84—96a, durch Bakterien § 104, aus Eiweiß § 173. Vgl. Mannit- und Glyzeringärung.
Alkoholase 429.
Ambozeptoren, Bindung durch Angriffsstoffe § 324, Bildung durch Lysinogene § 333, Eiweiß — § 343.
Ameisensäure, Ernährung m. — 116, 437, Bildung von — 331, 508.
Amine, als Nahrung 111, s. Pto-
maine.
Aminazidase 498, 517, 544.
Aminosäuren, Gehalt der Kl. an — 71, Ernährung mit — 111, 115, 119, Bildung aus Eiweiß § 165 u. 166, Spaltung der — § 167—175.
Ammoniak, Salze des — zur Ernährung 110, Bildung aus Eiweiß 484, 524, aus Salpetersäure 612, aus Amiden 589, Harnsäure 593, Harnstoff 595.

Amöben, Verdauung 500, Gifte 991.
 Amygdalin, Spaltung 454, 455, 458, 459.
 Amylase 219.
 Amylalkohol, Oxydation d. — 428, Bildung 535.
 Amylobacter s. Clostridien.
 Amylomyces 283.
 Amylozyma, Bac. 351, 360.
 Anaërobier 96 s. Buttersäuregärung § 113—115, Fäulnis § 168 u. 180.
 Analysen, Ergebnisse der chemischen — von Kl. 51, Schlüsse daraus 56.
 Anaphylaxogene § 344.
 Anaphylatoxin 1119.
 Angriffsstoffe § 319—330.
 Anhydridbildung 208, 698.
 Anpassung Kap. XVIII.
 Antagonismus 161.
 Antagonistisches Serum 1050 Anm.
 Antiagressine 1081.
 Antibakterizide Wirkungen § 323.
 Antibiose 165.
 Antifermente 28, 772.
 Antiformin, Auflösung durch — 33, — Impfstoffe 1078, 1087, 1108.
 Antigene im allgemeinen 209, giftige — § 262, 275, aggressive — § 327, 331, 333, die übrigen — § 334—344.
 Antikomplementwirkungen § 325 und 343.
 Antilytische Wirkungen § 324.
 Antiopsonische Wirkungen § 322.
 Antitoxine s. Gegengifte.
 Antiseptika § 57. Vgl. Desinfektion und Gifte.
 Antophysa 664.
 Apotoxin 1118.
 Arabin, Bildung 412.
 Arabinose s. Pentosen.
 Arginase 494, 497.
 Aroma, Bildung 533.
 Aromatische Stoffe, Ernährung mit — 111, Hemmung des Wachstums durch — 159, Umwandlung von — Kap. VIII, Bildung von — aus Eiweiß § 168 ff., s. Indol, Skatol, Phenol.
 Arsen, Reduktion von — 661.
 Aschenbestandteile in Kl. 88, Bedarf der Kl. an — 92.

Ascococcus 408.
 Asparagin, Ernährung mit — 110, 115, Spaltung von — 515, 526.
 Assimilation s. Aufbau, Kohlensäure, Stickstoff usw.
 Atmungsfiguren 100, 185.
 Atmung Kap. XIII § 218—223, § 225—227.
 Atoxyl 189, 662 Anm., 1078 Anm. 4, 1138 Anm. 8.
 Atrepsie 1064.
 Atrepsine 212.
 Aufbau im allgemeinen § 66, der Kohlenhydrate § 128—130, § 229, der Fette § 152 u. 230, der Glykoside § 163, des Eiweißes § 231.
 Aufgaben der Ernährung 124.
 Ausnützung der Nahrung § 232 bis 236.
 Auswahl der Nährstoffe durch Kl. 191.
 Autointoxikation der Kl. § 47, durch Kl. 806, 808.
 Autolyse § 9 u. 166, als Ursache der Selbstvergiftung 159.
 Autotrophe Keime 1167.
 Auxanographische Methode 746.
 Azetolase 429.
 Azeton, Nebenerzeugnis der Milchsäuregärung 334, der Eiweißzersetzung 533.
 Azetonhefe 255, -bakterien 515.
 Azetylmethylkarbinol 335.
 Azotobacter 630, Stellung im System 1160.

Bacillus, Stellung im System der Bakterien § 359. Die einzelnen Arten des Bazillus s. unter ihrem Artnamen, z. B. Bac. alcaligenes unter Alcaligenes. Nur besonders wichtige Keime und Stellen sind angeführt, im übrigen sind die Abschnitte nachzusehen, die von den einzelnen Leistungen handeln, also z. B. unter Milchsäuregärung, Stärkeverzuckerung.
 Bacterium vgl. Bacillus.
 Bakterien, Bau und mikrochemisches Verhalten der — Kap. I, Natur der -zelle 45, -blasen 409, 414, -gesellschaften 186, -niveaus 100, 185, -filter s. biologische Filter, -proteine 63,

- 907, -system und -abstammung § 359.
- Bakteriolyse** durch Serum 28, 1045, 1049, 1053.
- Bakteriolysine** s. Lysogene.
- Bakteriopurpurin** 780.
- Bakteriotropin** s. Tropogene und Oponine.
- Bakteroiden** 9, 619.
- Baldriansäure**, Bildung aus Kohlenhydraten 334, aus Milchsäure 441, aus Eiweiß 508.
- Bau** der Kl. 1.
- Baustoffe** der Kl. 125 s. Aufbau.
- Bazillen** s. Bacillus, -träger 1152, 1155.
- Befruchtung**, primitive bei Bakterien 2 (Anm. 1), Bedingungen der — bei Protozoen 139.
- Beggiatoa** 643.
- Bernsteinsäure**, Bildung aus Kohlenhydraten 329, aus Eiweiß 516, 543, Zersetzung der — 442, 516.
- Betriebsstoffe** 125.
- Bewegung**, Wirkung der — auf Ernährung und Leben 148, auf Fäulnis 580, Beeinflussung der — durch physikalische Reize 154, — durch chemische Reize 183, — der Algenbakterien durch Gleiten 1160, Veränderlichkeit der — § 348, Einteilung der Bakterien nach den -organen.
- Bienen**, Faulbrut 583.
- Bierbrauerei** § 94.
- Bifidus**, Bac. 288, 1154.
- Biologische Filter** 571, 582.
- Bios** 167.
- Bioskopische Methode** 1016.
- Bitterstoffe**, Entstehung bei der Eiweißspaltung 526, 536, 555.
- Bituminöse Stoffe**, Entstehung 383.
- Blutgifte** 994.
- Blutkörper**, rote als Zusatz zu Nährböden 108, 190, 1066 (Anm. 1), Lösung der — durch Gifte § 312—315, Verklebung derselben § 316, weiße —, Zerstörung derselben durch Gifte § 317, Wirkung als Exsudatzellen und Phagozyten § 322 u. 331.
- Boden**, Zersetzungen im — 446, 569, 581, Nitrifikation im — 598, Denitrifikation im — 617, Stickstoffbindung im — 618, 625, 626, 633, — als Zusatz zur Kultur 605, 631, bakteriologische Untersuchung des — 633 (Anm.).
- Boocopricus**, Bac. — 424.
- Bordet-Gengousche** Antikörper § 343.
- Botrytis** 225, 470.
- Bouquetstoffe** 261, 533.
- Bradsot** 924.
- Brandpilze**, Gift 998.
- Branntweinbrennerei** 282.
- Brenzweinsäure**, Vergärung 442.
- Bromverbindungen** 666.
- Brot**, Sauerteiggärung des — 327, Mehlteiggärung 338, schleimiges — 407 gefärbtes — 789.
- Bulgaricus**, Bac. — 288, 297, 1154, s. Yoghurt.
- Butterbereitung** 339.
- Buttersäure**, — Gärung der Kohlenhydrate § 113—116, -gärung der Milchsäure 439, -gärung des Eiweißes 508, Vergärung der — 443, -bakterien s. Clostridien, Veränderlichkeit (Kap. XVIII).
- Butylalkohol**, — Gärung der Kohlenhydrate § 115, — aus Glycerin und Mannit 423, aus Eiweiß 535.
- Castellanischer Versuch** 1091.
- Caucasicus**, Bac. — 287.
- Cerolin** 73.
- Chemische Zusammensetzung** der Kl. Kap. II, Zerstörung der Kl. durch — Einflüsse § 6—16, — Ernährungsreize 178, — Bewegungsreize 183.
- Chemismus**, Beziehungen zum Bau 1, s. Stoffwechsel.
- Chemorezeptoren** 189, 211.
- Chemotaxis** für Bakterien usw. 183, — für Leukozyten 911, 1034, 1072.
- Chemotropin** 1039.
- Chemotropismus** 183.
- Chinin**, Reizwirkung 181, 772.
- Chitin** in Kl. 83, Zersetzung des — 112.
- Chlamydozoen** 2, 3, Stellung im System 1168, Gifte 993.
- Chlor**, Veränderungen von -verbindungen 666, auflösende Wirkung des — im Chlorkalk und Antiformin 33, — zerstört Tuberkelgift 983, s. Salze.

- Chloroform** bei Fermentierungen 770.
- Chlorophyllbakterien** 780, 1160.
- Cholera bazillen**, Milchsäurebildung 307, Eiweißspaltung und Nitrosoindolreaktion 521, Gifte der — 925, Granulabildung der — in Serum 30. Angriffsstoffe 1026, Bindung der Ambozeptoren an — 1047, — u. Leuchtbakt. 748.
- Cholera infantum** 807, 963, 976, 1158.
- Cholera nostras** s. Cholera infantum, Paratyphus-, Proteusgift.
- Cholestearin**, in Kl. 73, Ausfällung des — 589, Wirkung des — auf Gifte 877, 1009.
- Cholin**, Spaltung 588.
- Chromatin** 47.
- Chromatolyse** 12.
- Chromopare Bakterien** 787.
- Chromophore Bakterien** 787.
- Cloacae**, Bac. — als Säureabbildner 289, sein Gärungsvermögen 303, 315, 318, 327, 332, Säure- und Gasbildung 347.
- Clostridien** als Ursache der Buttersäuregärung § 113—115, der Pektinvergärung § 75, Zellulosevergärung § 117, der Fäulnis § 268, der Stickstoffbindung § 302, Stärkebildung in ihnen § 130, Oxydationen durch — 448.
- Colibazillen** und ihre Gruppe als Erreger saurer Gärung § 97 bis 110, Säuerung und Gasbildung durch — 345, Eiweißspaltung durch — 537, Gifte der — 944.
- Crenothrix** 663, vgl. Algenbakterien.
- Cyanogenes**, Bac. 783.
- Cyanophyzeen**, Verwandtschaft mit Bakterien 1159.
- Danyszscherscher Versuch** 849, 883, 885.
- Darm**, Gärung im — 374, Fäulnis im — 570.
- Dauerhefe** 255.
- Dauerzustände** (Sporen) Bedingungen ihrer Bildung 137, Veränderlichkeit der — § 347.
- Degenerationsformen** § 3.
- Denitrifikation** 606.
- Desinfektion**, durch physikalische Mittel § 42—45, durch chemische § 57, vgl. sichtbare Zerstörung der Kl. durch mechanische § 5 und chemische Einflüsse § 6—16, Veränderlichkeit der Widerstandsfähigkeit § 350. S. auch Antiseptika, Gifte.
- Destilliertes Wasser**, Wirkung 37.
- Deutero toxine** 841.
- Dextran** 81, 409.
- Dextrin**, Verzuckerung 222, Vergärung 247, 303, 354.
- Dextrose** s. Hexosen.
- Diaminosäuren**, Bildung aus Eiweiß 530, Spaltung 522.
- Diastase** 214.
- Dichtigkeit** der Nährböden, Einfluß der — auf Wachstum 139, auf Fermentierung 758.
- Diphtherie bazillen**, Säurebildung 341, Gift der — § 261 bis 267, Stellung im System 1161.
- Disaccharide**, Hydrolyse der — 231, Vergärung der — 247, 301, 354.
- Druck**, Einfluß auf Ernährung 150, auf Bewegungen 155.
- Drusen** der Strahlenpilze usw. 8.
- Durchgängigkeit** des Plasmas 4, 42.
- Dysenterie** s. Ruhr.
- Eier**, Fäulnis der — 566, Giftbildung der Cholera bazillen in — 927.
- Eigengifte** der Kl. im allgemeinen 791, § 268—280, im besonderen § 281 ff.
- Einteilung** der Hefen § 86, der Kleinwesen § 359, der Stoffwechselvorgänge Kap. V.
- Eisen**, Bedarf an — 95, -bakterien 663.
- Eiweißstoffe**, Gehalt der Kl. an — § 25, Bedarf der Kl. an — § 32 u. 33, Wandlungen der — im Stoffwechsel Kap. IX.
- Ektoenzyme** 750.
- Ektoplasma** 10, 46, Beziehungen der -hypertrophie zur Virulenz 1062, 1067.
- Ektotoxine** 868.
- Elastikotropismus** 154.
- Elektrizität**, Einfluß auf Ernährung 152, auf Bewegungen 156, auf Fermente 765, auf die Toxine und Antitoxine 876, 891.

- E m u l s i n** der Hefe 455, der Schimmelpilze 457, der Bakterien 459.
E m p h y s e m b a z i l l e n, als Erreger von Buttersäuregärung 352, 357, Gifte 924.
E n a n t i b i o s e 171.
E n d o e n z y m e 750.
E n d o t o x i n e 868, 907, 1118.
E n d o t r y p t a s e 495.
E n e r g i e w e c h s e l Kap. XIII.
E n t e r i t i d i s b a z i l l e n s. Paratyphus.
E n t e r o c o c c u s 285, 336, s. Streptokokken.
E n t e r o k i n a s e 494.
E n t z ü n d u n g s s t o f f e § 280, § 331, spezifische — § 332.
E n z y m e Kap. XIV.
E p i t o x o n o i d e 849, 883, 885.
E r d ö l 384.
E r e p s i n 493, 496, 537.
E r g o t i s m u s 989.
E r m ü d u n g s g i f t e 918, 1119.
E r n ä h r u n g, Wege der — 3, Mittel zur — Kap. III, weitere Bedingungen der — Kap. IV, Einfluß der — auf Farbstoffbildung 785, Giftbildung 866.
E r s c h ö p f u n g der Nahrung als Todesursache 134, 157, — Theorie der Immunität 1066.
E r s c h ü t t e r u n g, Einfluß auf Ernährung 148, auf alkoholische Gärung 267.
E r y s i p e l o i d 1156.
E r y t h r i t, Vergärung 424.
E s s i g s ä u r e als Nahrungsstoff 116, -gärung (anaërobe) der Kohlenhydrate 312, -gärung (aërobe) des Alkohols 428, — im Gewerbe 432, -gärung der Milchsäure 441, der Bernsteinsäure und Glyzerinsäure 443, der Äpfel- und Weinsäure 444, der Zitronensäure 445, des Eiweißes 508.
E x s u d a t s. Alexine, Leukine, Leukozidine, Opsonine, Phagozytose.
F a r b r e a k t i o n e n, Schlüsse aus — auf die Natur der Bakterienzelle 45, Veränderlichkeit der — 1136.
F a r b s t o f f e, als Kernfärbungsmittel 38, zur Fettfärbung 48, — binden Gifte 879, 909, 968, Bildung von — aus Glykosiden 454, 459, durch Oxydation 469, Reduktion von — durch Bakterien 473, — der Bakterien und Pilze Kap. XV, Zusätze von — zu Nährböden 345, 473.
F a u l k a m m e r v e r f a h r e n 381, 573.
F ä u l n i s im allgemeinen 502, durch Reinkulturen von Anaëroben 504, durch Proteusbazillen 510, gemischte (natürliche) — und Verwesung § 179—188.
F ä u l n i s w i d r i g e Mittel § 57, § 184—187.
F e t t, färbbares in Kl. 48, — als Bestandteil des Körpers 78, Ernährung mit — 116, Umwandlung des — im Stoffwechsel § 137, 138, 149—151, Bildung von — 701, giftiges — 821. S. Lipide.
F e t t s ä u r e n, Ernährung mit 115, Verwandlung der — im Stoffwechsel § 139—152, Bildung von — bei der Zersetzung der Kohlenhydrate § 90, 97—117, § 119, 123—125, der Alkohole, Fette od. Fettsäuren Kap. VII, des Eiweißes 508 ff., Darstellung der flüchtigen — 312 Anm., — als Gifte 807.
F i e b e r s t o f f e § 280, § 331.
F i l t e r, Wirkung auf Zersetzungen 571, 581, auf Enzyme 755, auf Gifte 872, Scheidung der Toxone und Toxine durch — 840.
F i l t r i e r b a r e V i r u s s. Chlamydozoen.
F i s c h g i f t e 975.
F l a c h s r ö s t e 227.
F l a g e l l a t e n, Verwandtschaft zu Bakterien 1162.
F l e i s c h, Fäulnis § 180, Vergiftungen durch — 586, 941.
F l e i s c h e x t r a k t s t o f f e, Spaltungen § 192.
F l u o r e s z i e r e n d e B a k t e r i e n 783, Eiweißspaltung durch — 526, Stellung der — im System 1164.
F l u o r e s z i e r e n d e F a r b s t o f f e, photodynamische Einflüsse 154, — von Bakterien 783.
F l u o r s a l z e, Reizwirkung 182.
F o r m a l d e h y d, Ernährung mit 116, — als Oxydationsprodukt 394, Wirkung auf Fermente 492, 770, — in der Luft 122 (Anm.).
F o r m e n der Kl. Kap. I, unregelmäßige (Degenerations-) — § 3, Veränderlichkeit der — § 346.

Fossile Hölzer, Bakterien darin 381.

Freßzellen s. Phagozytose.

Froschlaich 405, 409.

Fruktose Bildung 425, Reduktion zu Mannit 399, s. Hexosen.

Fusarium, Gift 481.

Fuselöl 260, 534.

Galaktan 411.

Galaktase 551.

Galaktose s. Hexosen.

Galle, Lösung der Kl. durch — 17, giftwidrige Wirkung der — 877.

Gallensäuren, Spaltung 589.

Gallensteine, Bildung 589.

Gallionella 664.

Gärungen (Spaltungs-) im allgemeinen § 61 u. 62, § 223 u. 224, im besonderen s. die einzelnen Kapitel VI—XI.

Gärungsenzyme § 224a.

Gärungsgewerbe § 75, § 94 bis 96a, 111, 116, 136, 150, 156 bis 158, 178.

Gase, zur Ernährung 96, 112, 116, 120, Bildung von — s. bei den einzelnen Gärungen, Verwertung zur Unterscheidung der Bakterien § 112, Analyse der — § 221.

Gasphlegmone s. Emphysem.

Gegengifte der Kl. gegen Gifte in Nährböden § 57, spezifische — (Antitoxine) gegen die Gifte der Kl. im allgemeinen § 275—278, gegen Diphtheriegift § 262—267. Vgl. auch die einzelnen Gifte § 281 bis 318, nicht spezifische — § 274.

Gegenwirkungen, wechselseitige der Wirte und Parasiten § 53.

Geißeln, Brauchbarkeit zur Einteilung der Bakterien 1164, Veränderlichkeit der — § 348.

Gelase 225.

Gelatineverflüssigung § 165 u. 166, Veränderlichkeit der — § 351.

Genußmittel s. Gärungsgewerbe.

Geologie, Beziehungen der Bakterien zur — § 118, vgl. auch 598, 656, 664, 666.

Geotropismus 154.

Gerberei 566.

Gerbstoffe, Veränderungen 464.

Gerinnung des Kaseins durch Säure 342, durch Lab 547, 698, — des Blutes und Eiweißes durch

Bakterien 551, 1018, des Bakterienleibes durch Gifte 38.

Geruchstoffe 533.

Geschichte der Krankheitserreger § 358, Stammes- — der Kl. § 359.

Geschlechtliche Fortpflanzung s. Befruchtung.

Geschmackstoffe 533.

Geschwülste, bösartige 990.

Gewicht, spezifisches der Bakterien 57.

Giemsafärbung 47.

Gifte für Kl. § 57, Lösungserscheinungen durch — § 6—16, Reizwirkungen durch — § 3 u. 4, § 55, — der Kl. für höhere Wesen § 51 Kap. XVI, — für sich selbst § 47, für andere Kl. § 48, Reizwirkungen der — für Tiere § 53, 279, 331. (Vgl. Gegengifte). Einfluß von — auf Fermente 769, flüchtige — 971, harzartige — 989.

Giftspektren 841.

Glaziale Bakterien 146.

Glukase 237.

Glukazetase 264.

Glykogen in Kl. 82, Verzuckerung des — 223.

Glykokoll, Zersetzung 592.

Glykol, Oxydation 425.

Glykolsäure, Vergärung 442.

Glykonsäuregärung 386.

Glykose s. Hexosen.

Glykoside, Wandlungen Kap. VIII.

Glykuronsäure, Bildung 386, Vergärung 445.

Glyzerin, Lösung der Kl. durch — 19, Ernährung mit — 115, 118, Bildung des — 328, Vergärung § 131, Säuerung 340, Verbrennung § 132, Benutzung des — zur Darstellung von Enzymen § 240, Giften § 272 oder Impfstoffen § 333.

Glyzerinsäure, Vergärung 443.

Glyzerose, Vergärung 250, Bildung 394.

Gonokokken, Säurebildung 350, Gift 964.

Gramfestigkeit 40, Zusammenhang der — mit Endotoxinbildung 915, mit Aggressinbildung 1030.

Granulabildung im Serum 29.

Granulase 220.

- G**ranulobacters. Clostridien.
Granulome § 332.
Größe der Kl. § 1, Veränderlichkeit der — § 346.
Grubengas s. Sumpfgas.
Grüne Bakt. s. Chlorophyllbakt.
Guanase 494, 497.
Guanin, Zersetzung 594.
Gummi in Kl. 80, Verflüssigung des — 224, Vergärung des — 374, Bildung des — 404.
Gummosis 408.
Gurken, Gärung der sauren — 337.
- H**adromase 230, 465.
Hämoglobin liebende Bakterien 108, 190, 1066 (Anm.), — lösende Bakterien § 312.
Hämolysine der Bakterien § 312—315.
Hämorrhagische Septizämie, Gift § 290, Anpassung 1155.
Hanfröste 227.
Haptotropismus 154.
Harnsäure, Spaltung 593.
Harnstoff, Ernährung mit — 111, 117, Vergärung 595.
Harzartiges Gift 989, — Bitterstoff 536.
Hefen, Zusammensetzung § 23, Arten und Rassen nach ihrem hydrolytischem und Gärvermögen geordnet 247, Gifte der — 715, alkoholische Gärung durch — § 84—96a, Selbstverdauung der — § 166, Eiweißspaltung durch — § 173, Stellung im System S. 1159, 1162.
Heilserum 1080, s. Gegengifte, Lysino- und Tropinogene.
Hemmungstoffe 28, 209, 268, 769, 877, 1098, 1101.
Heteromorphismus 7.
Heu, Selbsterhitzung 462.
Heubazillen, Gärungen durch — 290, 441, oxydierende Wirkungen 394, 440, Bildung von Zellulose 416, Eiweißspaltung 525, Gifte 975.
Hexosen, zur Ernährung 115, Verhalten zur alkoholischen Gärung 249, 258, zur Milchsäuregärung 292, 299, zur schleimigen Gärung 409, Bildung von — durch Hydrolyse § 70—83a.
Hilfsstoffe der Kl. 209.
Hippursäure, Spaltung 589.
Hogcholera s. Schweinepest.
- H**olz, Zersetzung seiner Bestandteile 380, 465, vgl. Humusstoffe.
Humusstoffe, Ernährung mit — 112, 118, Entstehung 381, 557, 561, Veränderungen der — 464.
Hühnercholera, Gift § 290.
Hundswut 994, 1168.
Hungertod 134.
Hydrolysen im allgemeinen § 60 u. 228, der Kohlenhydrate § 69—83a, der Fette § 137 u. 138, der Glykoside § 153—156 u. 158, der Proteinstoffe § 165 u. 166, des Lezithins § 109, der Säureamide § 191.
Hydrotropismus 183.
Hypertrophie des Ektoplasmas 10, 1041, 1062, — der Rezeptoren 1047, 1060.
- I**mmunität § 331 u. 333, atreptische — 1064 Auffassung der — 1112.
Immunitätslehre = Fortsetzung dieses Werkes vgl. Vorwort.
Immuntoxine s. Impfgifte.
Impfgifte 792, 838, 880.
Impfstoffe 176 u. Kap. XVII § 327, 331, 333—349.
Indigo, Reduktion durch Bakterien 477, -gärung 459.
Indol, Bildung 507, 511, 521, 525, 538, — als Gift 808.
Infektion 171.
Infektionslehre = Fortsetzung dieses Werkes vgl. Vorwort.
Infektiosität s. Virulenz.
Influenzabazillen 1155, Bedarf an Hämoglobin u. a. 108, 190, 1066 Anm., Gift der — 977.
Ingwerwein 283, 337, 405.
Itramolekulare Oxydation § 62, § 223 u. 224.
Inulinas 223.
Ivertase 232.
Involutionenformen 7.
- J**ahreszeiten, Abhängigkeit der Giftbildung von den — 989.
Javellesche Lauge 34.
Jod, Wirkung auf Bakterien 5. 41. Giftzerstörung durch — § 174, Veränderungen der -verbindungen 666.
- K**adaverin 522, 815.
Kaffee gärung 461.

- Kakaogärung** 461.
Kalkstickstoff, Zersetzung 595.
Kälteliebende Bakterien 146.
Kapselbazillen 408, 1088, 1102, 1104, 1113, s. Aërogenes.
Kapseln der Kl. 9, 408, 1038, 1040, 1044.
Karotine 781.
Kartoffeln, Gifte in — 481, 819.
Kartoffelbazillen s. Heubazillen.
Kasease 492.
Käse, Reifung 551, Gifte in — 818.
Katalase 471.
Kefyr § 82, 96 a, 111.
Keratin, Zersetzung 112.
Kern der Bakterien 2, 38, 45, 1160.
Keuchhusten, Gift 978, s. Hämoglobin.
Kieselsäure, als Nährbodengrundlage 600.
Klassifikation der Hefen § 86, der Kl. § 359.
Knöllchenbakterien 618.
Koagulation s. Gerinnung.
Kobragift, Lösung von Kl. durch — 18, Neutralisierung der Alexine durch — 1043.
Koffein, Wirkung 8, 12.
Kohle, Entstehung 381, Absorption von Giften durch — 878.
Kohlenhydrate, Verwandlungen im Stoffwechsel Kap. VI, Aufbau von — § 128—130, § 229.
Kohlenoxyd, als Nahrung 116.
Kohlensäure, als Nahrung 120, 601, 648, 649, Bildung von — 671, Nachweis von — 676, Wirkung der — unter Druck 151.
Kohlenstoff, Gehalt der Kl. an — 54, Bedarf an — 114.
Kohlenwasserstoffe, als Nahrung 116.
Kokken, Stellung im System § 359, s. Strepto-, Pneumo-, Staphylo-, Entero-, Lacto-, Gono-, Meningokokken, Sarcina.
Kolagärung 461.
Kolben der Strahlenpilze usw. 8.
Kolloide, bei der Fermentierung 768, bei der Entgiftung 878, Gifte, Antitoxine, Antigene als — § 277.
Kolonien 139, Veränderlichkeit der — 1138, sekundäre — 167, Pseudo — 186.
Kommensalismus 173.
Komplement, Bindung des — § 325, 326, 331, 343, 344.
Kondensationen von Stoffen, § 65 u. 228 b.
Konfiguration des Moleküls. Bedeutung der — 249, 426, 456, 772.
Konzentration der Nährstoffe 139, — der fermentierbaren Stoffe 758, — der Immuntoxine 893, — der Endotoxine 862 (Anm. 3).
Körnerfärbung 47.
Kraftleistungen der Kl. 736.
Kraftwechsel in Beziehung zum Stoffwechsel Kap. XIII.
Krankheitserregung § 51.
Kreatin, Zersetzung 593.
Kreatinin, Zersetzung 593.
Kropf 994.
Kumys § 96 a und 111.
Kwass § 96 a und 111.
Labenzym 547.
Lackmus, Reduktion des — 473, -gärung 461, -molke 339, -milch 340.
Lactobacillus 286.
Lactococcus 285.
Lakkase 467.
Laktase 240. 457.
Laktazidase 264.
Laktolase 304.
Lambic § 96 a u. 111.
Lanceolatus, Streptococcus — s. Pneumokokken.
Lange Milchsäurebazillen 287, § 99—102, Bedeutung im Gewerbe § 111, — im System 1154, 1166.
Langmilch 406.
Latente Infektionen 173, 1152.
Lävulose s. Fruktose.
Leben und Tod 130.
Leben (egyptisches) § 82, 96 a, 111.
Leichen, Fäulnis der — 569.
Leistungen der Kl. 124, Kraft — § 237.
Leptothrix 663, s. Algenbakterien.
Leucht bakterien 743.
Leuconostoc 405, 409.
Leukine 1041 (Anm. 3).
Leukotaxis s. Chemotaxis.
Leuko zidine § 317.

- Leukozyten** s. Chemotaxis, Leukozidine, Phagozytose.
Lezithin in Kl. 73, Spaltung des — 588, Lösung durch — 18, s. Lipoide.
Licht, Entwicklung von — 743, Einfluß des — auf Ernährung und Leben 152, auf Bewegung 154, auf Ranzigwerden der Butter 450, auf Fäulnis und Verwesung (Selbstreinigung) 579, auf Fermente 765, auf Farbstoffe 785, auf Gifte 876, auf Virulenz 1068.
Lignin, Zersetzung 465.
Lipasen 435.
Lipochrome 781.
Lipoide, Einwirkung auf Kl. 16, auf Gifte 877 auf Luesserum 1113.
Lithiumsalze, Wirkung 8.
Lösungsmittel für Bakterien § 6—15.
Luft, Nährstoffe in der — 122, s. Sauerstoff, Druck, Gase.
Lysine s. Lysinogene, Hämolysine.
Lysinogene (Angriffs- und Impfstoffe) § 327, 333, 334.

Mais, als Ursache der Pellagra 989.
Makrophagen 1070.
Maltase 237, 457.
Maltoglukase 237.
Maltonwein 279.
Maltose, Hydrolyse 237, Vergärung 247, 301, 354.
Mangan, Bedarf an — 95, Abscheidung von — 665, Beteiligung an Enzymwirkungen 757, 768.
Mannit, Gehalt d. Kl. an — 83, Ernährung mit — 115, -gärung 328, 397, 402, -vergärung § 131.
Mannose s. Hexosen.
Massengesetz 890, 899.
Mäusetypus, Gift 942, vgl. Paratyphus.
Mazun § 82, 96 a, 111.
Mechanische Zerstörung der Kl. 10, 869, — Wirkung der Kl. 859, 993.
Mehlteiggärung 338.
Melanin 384, 387, 469, 782.
Membran der Bakterien 4, 45, -stoffe der Kl. 78.
Meningokokken, Säurebildung 349, Gift 963.
Merkaptan, Bildung 641, 643.
Metabiose 168.
Metalle, Bedarf an — 92, Beteiligung von — an der Fermentwirkung 767.

Metarabin 412.
Methylalkohol, Bildung 424, Oxydation 428.
Methylenblau, Reduktion des — 474, 478, vgl. Farbstoffe.
Methylglykosid 456.
Micrococcus s. Staphylo-, Gono-, Meningokokken, Sarcina.
Miesmuschelgift 817, 1116.
Mikroaërophilie 100.
Mikrochemisches Verhalten der Kl. Kap. I, Veränderlichkeit desselben § 349.
Mikrooidien 355.
Mikrophagen 1070.
Milch, milchsaure Gärung der — 283, buttersaure Gärung 352, Reduktionen in der — 480, Labgerinnung 547, Fäulnis 565, Molkereiprodukte § 111 u. 178, Lakmus- — als Nährboden 340.
Milchsäure, -gärung § 97 bis 111, Vergärung der — 439, — aus Eiweiß 509.
Milchzucker, Hydrolyse § 82, milchsaure Gärung des — § 99 bis 102, buttersaure Gärung des — § 113—116, Benutzung von — -Nährböden 342, 345.
Milchzuckerhefen 241.
Milzbrandbazillen, Granulationen im Serum 29, Protein der — 63, Gift der — 954, s. auch Veränderlichkeit der — Kap. XVIII.
Mineralstoffe in Kl. 85, Bedarf an — 92 s. Metalle.
Miso 283.
Molkereiwesen § 111 u. 178.
Morphologie der Kl. 1, 45.
Mutation 1123.
Mutualismus 173.
Muzin, Bildung von — 71, 414.
Mykoprotein 62.
Mykorrhizen 625.
Myxobakterien 409, 414, 1168.

Nährstoffe der Kl. Kap. III.
Nahrungsmangel als Todesursache für Kl. 134, 157, für ihre Wirte 171.
Nahrungsspende, Kl. als — 177.
Naphtha 384.
Nastin 78.
Natürliche Abarten und Arten § 357, — System der Bakterien § 359.

Nekrotisierende Wirkung von Giften § 318 u. 332.
 Neubildungen 990, § 332.
 Neurin 588, 817.
 Nevskia ramosa 408.
 Nitragin 624.
 Nitrate, Ernährung mit — 112, Bildung von — § 196, Zersetzung von — § 197—200.
 Nitrifikation § 196.
 Nitrite s. Nitrate, Giftwirkung der — 803.
 Nitrobakterien 599.
 Nobilis, Bac. 553.
 Nuklease 494, 496.
 Nuklein in Kl. 65, giftiges — der Cholerabazillen 929, Colibazillen 945.
 Nukleinsäure, Spaltung 494, 496.
 Nukleoproteide der Kl. 66, giftige — 869, 929 usw.
 Nutrirezeptoren 211, 1064.
 Nutrosenährböden 342.
 Nützliche Parasiten 173, — Stoffe, Erzeugung durch Kleinwesen 177, vgl. Gärungsgewerbe.
 Obst, Fäulnis 459, 567.
 Ödembazillen, erzeugen Buttersäuregärung 352, 356, Fäulnis 506, Gifte 924.
 Oidien, pathogene 248, Gifte 990.
 Oligocarophilus, Bac. 122.
 Oligodynamische Wirkungen 37, 187.
 Oligonitrophile Bakterien 113, 627.
 Önoxydase 470.
 Oospora, Gift 990.
 Opsonine (od. Tropine) § 322, § 333.
 Organgifte § 318.
 Organisation, chemische — der Zelle 50, 209.
 Organische Basen § 259.
 Organvirulenz 175, 1065.
 Orseillegärung 461.
 Osmotischer Druck 3, — Ströme 150.
 Osmotropismus 183.
 Oxalsäure, -gärung der Kohlenhydrate 389, -bildung aus Fetten 447, aus Eiweiß 531, Vergärung der — 442.
 Oxydasen § 222.
 Oxydation im allgemeinen § 62, § 218—227, der Kohlenhydrate

§ 119—123, der Alkohole § 132 bis 136, der Fette und Fettsäuren § 149 u. 150, der Glykoside usw. § 156—159, der Eiweißstoffe § 176 ff., der Harnsäure § 193, des Ammoniaks § 196, des Schwefels und seiner Verbindungen § 207—210, des Eisens § 216.
 Ozaenabazillen s. Kapselbazillen.

Pantotrophus, Bac. 117.
 Paracolibazillen s. Coli- und Paratyphusbazillen.
 Paradyenterie s. Pseudodysenterie.
 Paraffin, Ernährung mit — 116.
 Paraputrificus, Bac. 357.
 Paratyphusbazillen, Zuckervergärung durch — 326, Säure- u. Gasbildung 344, Gifte 941.
 Pararabin 412.
 Parasitismus § 51—53.
 Pasteuria ramosa 409.
 Pediculatus, Bac. 405.
 Pektinase 225.
 Pektinvergärung 227.
 Pellagra, Gift der — 989.
 Pentosane, Veränderungen § 73, 74 u. 117.
 Pentosen in Kl. 65, zur Ernährung 115, Verhalten zur Hefe 250, zu Milchsäurebakterien 292, 299, zu Paratyphusbazillen 344, Streptokokken 348, zu Buttersäurebazillen 354.
 Pepsinsalzsäure, Verdauung der Bakterien durch — 23, Zerstörung der Gifte und Impfstoffe durch — 877, 1078.
 Peptische Enzyme 487.
 Peptolytische Bakterien 537.
 Peptone, zur Ernährung 109, 114, 119, Bildung von — § 165 u. 166, Spaltung von — § 67—75, giftige — 874, 1119, s. Protein-
 stoffe.
 Peptonisierende Bakterien der Milch 524, 974.
 Peptonisierungsvermögen § 165 u. 166, Veränderlichkeit der — § 351.
 Peptotoxin 819.
 Peroxydasen 466.
 Pestbazillen, bilden Milchsäure 308, Gifte 952, in Wasser 1141.
 Pflanzenkrankheiten, Gifte 991, Erreger von — 226, 1153.

Phagotaxis 1035.
Phagozytose § 322.
Phenole Bildung 512, 525, 538.
Philothion 654.
Phlogosin 820.
Phosphor, Bedarf an — 92, Wandlungen des — 658.
Phosphorsäure, Abspaltung aus Kasein 540, bei der Selbstverdauung 495, Synthesen aus — usw. 263. Vgl. Nukleasen, Phosphor.
Photobakterien 743.
Photodynamische Wirkung 159.
Photographische Leistungen des Bakterienlichtes 747.
Phykochromazeen s. Cyanophyzeen.
Phylognese der Kl. § 359.
Pigmente der Kl. Kap. XV.
Plasmodiophora, Gift 992.
Plasmolyse 3.
Plasmoptyse 6.
Plastingegebilde 48.
Pneumokokken, Wachstum und Tod 130, 157, Säurebildung 349, Gifte 958, als Pneumonieerreger 1157.
Pneumoniebazillen siehe Kapselbazillen, Aërogenes.
Polkörner 6.
Pombe § 96 a, 111.
Präzipitogene § 342.
Preßsaftherstellung 254.
Prodigosusbazillen, Farbstoff 781, Gifte 975.
Propionsäure, -gärung der Kohlenhydrate 324, der Milchsäure 441, Bernsteinsäure 443, der Äpfelsäure 444, der Weinsäure 444, des Eiweißes 508, -bildung aus Propylalkohol 428, 429.
Propylalkohol, Bildung 371, Oxydation 428, 429.
Proteinochrom 540.
Proteinstoffe, Gehalt der Kl. an — 61, Bedeutung der — für Milchsäuregärung 297, Wandlungen der — Kap. IX, Aufbau der — § 231.
Proteolytische Enzyme § 165 u. 166.
Protocusbazillen, als Säurelabbildner 289, — als Vergärer der Kohlenhydrate 347, — bei der Fäulnis 510, 563, Gifte der — 971.
Protoplasma, -tätigkeit im Gegensatz zur Fermentierung 208,

209 usw., s. Organisation und Zelle.
Prototoxine 841, 883, 889.
Protozoen, Verwandtschaft mit Bakterien 1162 Gifte der — § 310, s. Amöben.
Pseudoagglutination 1101.
Pseudodiphtheriebazillen, Säurebildung 341, Gifte der — 988.
Pseudodysenteries. Ruhr.
Pseudinfluenza 1156.
Pseudokolonien 186.
Pseudomonas 1164.
Pseudotuberkulose, Baz. der — 343 (Anm. 1), Angriffsstoffe der — 1022.
Psychrophile Keime 146.
Ptomaine 809.
Purinbasen, Vorkommen in Kl. 66, Entstehung der — 461, Spaltung der — 593.
Purpurbakterien 647, 1160.
Putreszin 522.
Putride Intoxikation 809, 914, 1119.
Putrificusbazillen, Gärung durch — 356, Fäulnis durch — 507, 563, Gifte der — 925.
Pyocyanase, Wirkung auf Kl. 13, 159, 498, — auf Bakteriengifte 876, Giftigkeit der — 971.
Pyocyanusbazillen, Eiweißspaltung 526, Farbstoffe 782, Gifte der — 969.
Pyocyanin 782.
Radiumstrahlen 152.
Raffinose, Hydrolyse 243, Vergärung durch Hefe 247, durch Milchsäurebakterien 302, 345, 348.
Ragi 283.
Rauschbrandbazillen erregen Buttersäuregärung 352, 357, Fäulnis 504 ff, Gifte der — 922.
Raulinsche Nährlösung 89.
Razemische Verbindungen, Spaltung 191.
Reaktion der Nährböden, Einfluß auf Ernährung 143, auf Fäulnis 575, auf Fermentierungen 766, vgl. Gegenwirkungen.
Reduktasen 698.
Reduktion durch Kl. im allgemeinen § 63 u. 228a, der Kohlenhydrate (Mannitgärung) § 124 bis 126, der Fette und Fettsäuren § 151, der Farbstoffe § 161, — in Milch und Abwasser § 162, bei der

- Fäulnis § 168, 169, bei Gärungen § 224, beim Stoffaufbau § 229 bis 231.
- Reifen des Weines 448, des Käses 551.
- Reinzucht der Hefe, Verwendung in der Brauerei usw. 273.
- Reizstoffe der Wirte und Parasiten 175, — der Parasiten § 331, eigene und fremde Stoffwechselprodukte und Gifte als — für die Ernährung § 49, 50, 53, 55.
- Reversibilität der Fermentwirkungen 775, der Toxin- und Antitoxinveränderungen 857, der Toxin- u. Antitoxinverbindungen 888, 893, der übrigen Antigen-Antikörperverbindungen 1056, 1092.
- Rezeptoren 210, § 279, 327, bis 330, 334—344.
- Rhamnose s. Pentosen.
- Rheotropismus 154.
- Rhinosklerombazillen 1113 s. Kapselbazillen, Aërogenes.
- Riechstoffe § 173.
- Riesenwuchs 7, 1130.
- Rohrzucker s. Disaccharide, Invertase.
- Romanowskyfärbung 47.
- Röntgenstrahlen 152.
- Röste des Flachses und Hanfes 227.
- Rostpilze, Gifte 988.
- Rotlaufbazillen, Gifte 956. Stellung der — im System 1161.
- Ruhrbazillen, Vergärung der Zucker und Zuckeralkohole durch — 301, 315, 318, 332, 420, Säurebildung durch — 341, 343, Gifte 946, Angriffsstoffe — 1026, Abarten 1155.
- Saccharase 232.
- Saccharomyces, Arten und Rassen § 86, — neoformans 990, Gifte des — 990, s. Hefe.
- Salpeterbildung 598, 612.
- Salze, als Lösungsmittel 35, als Nahrungsstoffe 92, bei der Fermentierung 767, bei der Farbstoffbildung 786, Wirkung der — auf Gifte 879, auf Agglutination 1100.
- Saprophyten 174, — als Krankheitserreger 582, 1152 -Gifte 975.
- Sarcina mobilis 1135, Stellung der — im System 1163.
- Sarkosporidien, Gift 992.
- Sauerkraut § 96a und 111.
- Sauerstoff, Bedarf an — § 31, Wege des Sauerstoffs Kap. XIII, Einfluß des — auf Farbstoffbildung § 254, — auf Giftbildung § 271, Veränderlichkeit des Verhaltens zum — § 352, vgl. Oxydation, Oxydasen.
- Sauerteig § 96a und 111.
- Säureamide, Spaltung 589.
- Säurefestigkeit 44, 74, Zusammenhang der — mit Endotoxinbildung 915, — im System 1161, 1166. s. Wachs.
- Säureabbildner 289, 549. vgl. § 99—112.
- Säuren, Wirkung verdünnter — auf Kl. 37, auf Fermentierungen 766, auf Gifte 857, Ernährung mit organischen — 115, Spaltung von razemischen — § 58, Bildung von — aus Kohlehydraten § 97 bis 117, Verwertung der Bildung von — zur Unterscheidung von Bakterien § 112, Oxydation (Verzehrung) von — § 149.
- Schädliche Parasiten 171, — Stoffe s. Gifte.
- Schallwellen, Wirkung 149.
- Schimmelpilze Zusammensetzung § 23, — spalten razemische Verbindungen § 58, — hydrolysieren Kohlehydrate § 69—83, Glykoside § 155, Fette § 136, oxydieren Kohlehydrate § 119 bis 123, Fette § 149, oxydieren Eiweiß und bilden Ammoniak aus Eiweiß § 172, 176, 178, 181 ff., Gifte von — 988, Verwandtschaft mit Bakt. 1161.
- Schlamm, Selbstreinigung 572.
- Schlangengift s. Kobragift.
- Schleim in Kl. 80, -gärung 404, Zusammensetzung des — 409, Veränderlichkeit der -bildung § 351, Hydrolyse des — § 73, Vergärung des — 328.
- Schleimsäure-Vergärung 445.
- Schwefel, Gehalt an — 86, Bedarf an — 92, Veränderungen des — und seiner Verbindungen Kap. XI, Abscheidung von — 643 ff.
- Schwefelsäure-Bildung (Gärung) 643, 646, 648, Reduktion der — 655, vgl. Schwefel.
- Schwefelwasserstoff, Bildung (Gärung) aus Sulfaten 655, — aus organischen Verbindungen 634, aus Schwefel usw. 652, Oxydation des — 643, 646, 648, — als Gift 805.

- Schweinepestbazillen, Gift 943, vgl. Paratyphus.
 Schweinepestvirus, siehe Chlamydozoen.
 Schweinerotlauf s. Rotlauf.
 Schweineseuche Gift 951,
 Schwerkraft, Wirkungen 154.
 Seifige Milch 407.
 Seitenketten 210, -theorie § 279, § 327—329, § 334.
 Sekrete s. Säuren, Ammoniak, Enzyme, Farbstoffe, Gifte, Angriffs-, Reiz- und Impfstoffe.
 Sekundäre Kolonien 167.
 Semiclostridium 406, 411.
 Semipermeable Membran 4.
 Selenige Säure, Reduktion 659.
 Selbstentzündung 463.
 Selbsterhitzung 462.
 Selbstinfektion 173, 1158.
 Selbstverbrennung 691.
 Selbstverdauung s. Autolyse.
 Selbstvergärung 264.
 Selbstvergiftung s. Auto-intoxikation.
 Senföl, Entstehung 461.
 Sepsin, Vergiftung 810, 816, 914, 1119.
 Serum, Bakteriolyse durch — 28 s. Abwehrstoffe, Heilserum.
 Skatol s. Indol.
 Soja 283.
 Solanin, Bildung 481, 819.
 Sommerdiarrhöe s. Cholera infantum.
 Soor, Gärfähigkeit 248, Giftigkeit 990.
 Sorbose s. Hexosen, -gärung 425.
 Spaltungsgärungen s. Gärungen.
 Spezifisches Gewicht 57.
 Spießbazillen, als Fäulnis-erreger 504 (Anm. 1), 1032.
 Spirillen s. Vibrionen.
 Spirochäten, als Fäulnis-erreger 504 (Anm. 1), Gifte der — 993, 1113, Virulenz der — 1157, Stellung der — im System 1162, vgl. Wassermann s. Reaktion.
 Sporen, Bedingungen ihrer Bildung 137, Kopulationsvorgänge bei der Bildung von — 2 (Anm.), Wassergehalt der — 57, Veränderlichkeit der -bildung § 347, Widerstandsfähigkeit der — § 350.
 Sporogene Körner 48.
 Sproßpilze s. Hefe.
 Stammesgeschichte der Kl. § 359.
 Staphylokokken, als Säurelabbildner 289, spalten Eiweiß 520, Angriffsstoffe der — 1022, Gifte der — 966, Hämolysine der — § 312, Veränderlichkeit der — § 354.
 Stärke in Kl. 81, Verzuckerung von — 214, saure Vergärung der — 300, 302, 354, 365, 370, 371. Bildung von — 415.
 Steinbildung in der Galle 589.
 Stickstoff, Gehalt der Kl. an — 54, Bedarf an — 108, Ernährung mit freiem — 112, 618, 626, -bindung im Boden 633, -bildung (Gärung) aus Nitraten und Nitriten 609, -bildung bei der Fäulnis 560, Bildung von -oxyden 615.
 Stoffansatz, -ausnützung, -umsatz und -verbrauch 708, -aufbau s. Aufbau.
 Stoffwechsel im allgemeinen Kap. V, im besonderen Kap. VI bis XIII, Beziehungen von — und Kraftwechsel Kap. XIII, -bilanzen § 232—236, Veränderlichkeit des § 353.
 Stoffwechselerzeugnisse, Schädigung durch eigene — 156, Förderung durch eigene — 165, Schädigung durch fremde — 160, Förderung durch fremde — 168, — im allgemeinen Kap. V, — im besonderen s. Kap. VI—XIII.
 Strahlenpilze, als Humusbildner 381, als Eiweißzersetzer 533, Gifte der — 987, Stellung der — im System 1161.
 Streptokokken, ihre drei Unterarten, als Milchsäurebakterien 285, § 99 ff., Unterscheidung der — voneinander 348, Eiweißspaltung durch — 541, -gifte 961, — Hämolysine 997, Stellung der — im System 1163, vgl. Pneumokokken.
 Streptothrix s. Strahlenpilze.
 Stromatolyse 12.
 Styrol, Bildung 452.
 Sulfat, vgl. Schwefel und Schwefelsäure.
 Sumpfgas, Ernährung mit — 116, -gärung der Zellulose und des Gummis 374, der Essig-

säure 438, Milchsäure 442, Glykolsäure 442, Brenzweinsäure 443, Buttersäure 443, Äpfelsäure 444, des Eiweißes 506, 560, des Fleischextraktes 592, Bildung des — (Grubengases) in Steinkohlen 384, Vorkommen in der Luft 384.
Superoxydase 471.
Symbiose 168.
Synthesen s. Aufbau.
Syntoxoide 889.
Syphilis s. Spirochäten.
System der Bakterien § 359, der Stoffwechselfvorgänge Kap. V.
Tabakfermentation § 157.
Tannase 464.
Tartricus, Bac. 443, 445.
Taurin, Spaltung 589.
Tellurige Säure, Reduktion 659.
Temperatur, Einfluß auf Ernährung und Leben 145, auf Bewegungen 155, auf Fermente § 244, Farbstoffe § 254, Gifte § 274, Angriffsstoffe § 320, Impfstoffe § 333, 334, Veränderlichkeit des Verhaltens zur — § 352.
Teratologische Wuchsformen 7.
Talsperrenwasser, Verderbnis und Reinigung des — 580.
Teegärung 461.
Thermophile Kl. 147, 1145.
Thermotaxis 155.
Toxalbumine 824, 873.
Tod der Kl. 130, durch Hunger 134, vgl. Desinfektion, Gifte, Lösungsmittel.
Toxine 792, 813, vgl. Gifte.
Toxoide 832, 841, 881.
Toxone 838, 881.
Traubenzucker s. Hexosen, Säure- und Gasbildung aus — Nährböden § 112.
Trehalase 239.
Trisaccharide s. Raffinose.
Tritotoxin 841.
Traubensäure, Spaltung 192.
Tropinogene § 322, 333.
Trypanosomen, Gifte 992, Verhältnis zu Spirochäten 1162.
Trypsin, Verdauung der Kl. durch — 23.
Tryptische Enzyme der Kl. 487.
Tryptophan, Spaltung 512, Bildung 489, 540.
Tuberkelbazillen Stoffe 68, 74, Abarten 1143, Gifte 978, Überempfindlichkeit 1114, s. Säurefestigkeit.

Typusbazillen, Vergärung der Zucker und Zuckeralkohole durch — 300, 308, 315, 318, 332, 420, Säurebildung durch — 342, Eiweißspaltung durch — 515, 538, Gift der — 936, Angriffsstoffe der — 1026.
Tyrosinase 468.
Tyrotoxikon 818.
Überempfindlichkeit § 344.
Ultraviolette Strahlen, Wirkung 153.
Umkehrbarkeit s. Reversibilität.
Umsatzstoffe s. Fermente.
Undurchgängigkeit des Plasmas 4, 42.
Unregelmäßige Formen 7, Veränderlichkeit der — § 346.
Urease 598.
Urobakterien § 195.
Uschinskysche Nährlösung 115.
Uviolmilch 963.
Vakuolen 6, 47, 1145.
Vanillegärung 461.
Variabilität s. Veränderlichkeit.
Veränderlichkeit der Kl. Kap. XVIII.
Verbrennungswärmen der Nährstoffe 694, der Kl. selbst 714, 719, 726.
Verdauung der Kl. 23, -vorgänge durch — 697, -enzyme 486, vgl. Autolyse.
Verdichtungen s. Kondensationen.
Verflüssigungen s. Hydrolysen.
Vergärung s. die Gärungen der einzelnen Stoffe, z. B. Kohlehydrate.
Vergiftung s. Gifte.
Vermiforme, Bact. 405.
Verseifung der Fette 432, 435.
Verwesung 544, 556, von Pflanzenstoffen 567, — durch Säureverzehrung 448, Entstehung von Kohle und Humusstoffen bei der — 381, vgl. Fäulnis.
Verzehrung von Säuren 448.
Verzuckerung der Stärke 214, des Dextrins 222, s. Hydrolysen.
Verzweigungen der Bakterien 8, Bedeutung der — für die Stammesgeschichte 1161, 1167.

- Vibrionen**, Milchsäurebildung 307/8, Eiweißspaltung durch — 521, -gifte 935, Stellung der — im System 1164, s. Cholera.
- Virulenz** § 51 u. 319, Theorie der — § 328 u. 329, Bestimmung der — 998, 1036, Veränderlichkeit der — § 330, 356—358.
- Viskose** 411.
- Volutin** 48.
- Vorratsstoffe** 48, 415.
- Wachs** in säurefesten Kl. 75, Bedeutung des — 190, 985.
- Wachstum** 130, 134, vgl. Ernährung, Aufbau, Reizstoffe. -widerstände vgl. Abwehrstoffe, Desinfektionsmittel.
- Wärme** s. Temperatur, -entwicklung der Kl. 736, -werte der Stoffumwandlungen 694.
- Wasser**, Selbstreinigung 569, 580, vgl. Abwasser.
- Wasserbakterien** 140, 748, 1141.
- Wassergehalt** der Kl. 56.
- Wasserstoff**, Ernährung mit — 116, -gärung der Kohlenhydrate 321, — der Zellulose 374, bei der Fäulnis 559, Bedeutung des — für Reduktionen s. diese.
- Wasserstoffsuperoxyd**, Spaltung 471, Wirkung auf Fermente 771, auf Gifte und ihre Verbindungen mit Serum 879, 894.
- Wassermannscher Versuch** 877, 903, -sche Reaktion 1113.
- Weilsche Krankheit** 974.
- Weinbereitung** 278.
- Weinsäure**, zur Ernährung 115, Spaltung der razemischen — 192, Vergärung der — 444, s. Raulinsche Lösung.
- Weißbier** § 94 und 111.
- Widerstandsfähigkeit**, individuelle Verschiedenheit 136, Veränderlichkeit der — § 350, s. Sporen, Desinfektion.
- Wuchsstoffe** 1064, vgl. Reizstoffe.
- Wurzelknöllchen** § 201, 202.
- Wurzepilze** 625.
- Xylinum**, Bacterium —, oxydiert Zucker 387, höhere Alkohole 425, niedere Alkohole 430, bildet Zellulose 415, erzeugt Sorbose 426.
- Xylose** s. Pentosen.
- Yoghurt** § 111 s. *Bulgaricus*.
- Zelle**, Natur der Bakterien — 45, Leistungen der — 124, s. Organisation, Ernährung, Wachstum, Kern.
- Zellulase** 229.
- Zellulose** in Kl. 78, Vergärung 374, Oxydation 379, Bildung 415.
- Zentralkörper** 47, 1160.
- Zersetzungen** s. Stoffwechselvorgänge, Veränderlichkeit der — § 353.
- Zerstörung** der Kl. durch mechanische Einflüsse 10, durch chemische Einflüsse 12, — vgl. Desinfektion, Fermente, Gifte, Angriffs-, Reiz- und Impfstoffe.
- Zimtsäure**, Spaltung 452.
- Zitronensäuregärung** 387. Vergärung der — 445.
- Zoogloen** 408.
- Zucker**, Gehalt der Kl. an — 83, Ernährung mit — 115, Wandlungen der — im Stoffwechsel Kap. VI, Einfluß des — auf Fäulnis 577.
- Zuckersäure**, Bildung 386.
- Zusammensetzung**, chemische — der Kl. 51, Schwankungen der — 59, Veränderlichkeit der — § 349, vgl. Gram- und Säurefestigkeit.
- Zusammenwirken** von Nährstoffen 191, s. Symbiose.
- Zusammenziehung** des Protoplasmas 3.
- Zweigbildung** der Bakterien 9, Bedeutung der — für die natürlichen Verwandtschaft der Kl. 1161, 1167.
- Zymase** der Hefe 253, der Bakterien 304.
- Zymnin** 255.
- Zymogene** 775.
- Zymoexzitatoren** 768.
- Zymoparalysatoren** 769.
- Zystin**, Spaltung 638.
- Zytase** 229, auch anderer Name für Komplement (s. d.).

VERLAG VON F. C. W. VOGEL IN LEIPZIG.

Soeben erschienen:

Zweite, vollständig neubearbeitete Auflage

des

Handbuches der Kinderheilkunde

Ein Buch für den praktischen Arzt

Herausgegeben von

Prof. Dr. M. PFAUNDLER und Prof. Dr. A. SCHLOSSMANN

in München

in Düsseldorf

unter Mitwirkung von

Prof. Dr. B. BENDIX-BERLIN, Prof. Dr. J. VON BÓKAY-BUDAPEST, Dr. W. CAMERER-STUTTGART, Dr. S. ENGEL-DÜSSELDORF, Prof. Dr. E. FEER-HEIDELBERG, Prof. Dr. H. FINKELSTEIN-BERLIN, Prof. Dr. R. FISCHL-PRAG, Dr. W. FREUND-BRESLAU, Dr. J. K. FRIEDJUNG-WIEN, Dr. D. GALATTI-WIEN, Dr. E. GALEWSKY-DRESDEN, Privatdoz. Dr. F. HAMBURGER-WIEN, Privatdoz. Dr. R. HECKER-MÜNCHEN, Privatdoz. Dr. C. HOCHSINGER-WIEN, Dr. A. F. JAPHA-BERLIN, Privatdoz. Dr. J. IBRAHIM-MÜNCHEN, Privatdoz. Dr. W. KNÖPFELMACHER-WIEN, Prof. Dr. J. LANGER-GRAZ, Prof. Dr. L. LANGSTEIN-BERLIN, Dr. C. LEINER-WIEN, Privatdoz. Dr. E. MORO-MÜNCHEN, Privatdoz. Dr. P. MOSER-WIEN, Prof. Dr. H. NEUMANN-BERLIN, Dr. R. NEURATH-WIEN, Prof. Dr. K. VON NOORDEN-WIEN, Prof. Dr. M. PFAUNDLER-MÜNCHEN, Prof. Dr. H. PFISTER-CHARLOTTENBURG, Prof. Dr. C. Frh. VON PIRQUET-BRESLAU, Prof. Dr. W. PRAUSNITZ-GRAZ, Prof. Dr. R. W. RAUDNITZ-PRAG, Dr. O. ROMMEL-MÜNCHEN, Prof. Dr. B. SALGE-FREIBURG I. B., Dr. B. SCHICK-WIEN, Prof. Dr. A. SCHLOSSMANN-DÜSSELDORF, Prof. Dr. C. SEITZ-MÜNCHEN, Prof. Dr. P. SELTER-SOLINGEN, Prof. Dr. F. SIEGERT-KÖLN, Dr. P. SOMMERFELD-BERLIN, Dr. J. H. SPIEGELBERG-ZELL.-EBENHAUSEN, Prof. Dr. W. VON STARCK-KIEL, Prof. Dr. W. STOELTZNER-HALLE, Prof. Dr. M. STOOS-BERN, Dr. N. SWOBODA-WIEN, Prof. Dr. M. THIEMICH-MAGDEBURG, Privatdoz. Dr. J. TRUMPP-MÜNCHEN, Privatdoz. Dr. J. ZAPPERT-WIEN.

Das Handbuch erscheint in vier Bänden in Groß-Oktav-Format mit **2194 Druckseiten, 516 Textfiguren und 69 zum größten Teil bunte Tafeln.**

Preis des kompletten Werkes broschiert 50 M., in 4 Bände gebunden 60 M.
—— Einzelne Bände werden nicht abgegeben. ——

Es ist somit für das komplette Werk gegen die 1. Auflage eine **Preisermäßigung von 10 M.** eingetreten.

Inhaltsverzeichnis nächste Seite.

INHALTSANGABE.

I. Band.

Einleitung. Von Prof. Dr. A. Schloßmann in Düsseldorf.
Allgemeine Pathogenese und Pathologie des Kindesalters. Von Privatdozent Dr. F. Hamburger in Wien.
Allgemeine Prophylaxis. Von Prof. Dr. B. Bendix in Berlin.
Allgemeine Therapie. Von Prof. Dr. H. Neumann in Berlin.
Mortalität und Morbidität im Kindesalter. Von Prof. Dr. W. Prausnitz in Graz.
Milch. Von Prof. Dr. R. W. Raudnitz in Prag.
Weibliche Brust. Von Dr. S. Engel in Düsseldorf.
Stoffwechsel und Ernährung im ersten Lebensjahr. Von Dr. W. Camerer in Stuttgart.

Ernährung und Stoffwechsel jenseits des ersten Lebensjahres. Von Prof. Dr. A. Schloßmann in Düsseldorf und Dr. P. Sommerfeld in Berlin.
Erkrankungen der Neugeborenen. Von Privatdozent Dr. W. Knöpfelmacher in Wien.
Frühgeburt und Lebensschwäche. Von Dr. O. Rommel in München.
Asphyxie und Atelektase. Von Dr. O. Rommel in München.
Sklerödem und Sklerem. Von Dr. O. Rommel in München.
Erkrankungen in der Pubertätszeit. Von Prof. Dr. C. Seitz in München.

II. Band.

Erkrankungen des Blutes und der blutbereitenden Organe. Von Dr. A. F. Japha in Berlin.
Hämorrhagische Erkrankungen. Von Privatdozent Dr. R. Hecker in München.
Barlowsche Krankheit. Von Prof. Dr. W. v. Starck in Kiel.
Rachitis. Von Prof. Dr. W. Stoeltzner in Halle a.S.
Diabetes mellitus. Von Prof. Dr. K. v. Noorden in Wien.
Diabetes insipidus. Von Prof. Dr. K. v. Noorden in Wien.
Lymphatische Konstitution, Neuro-Arthritismus und exsudative Diathese. Von Prof. Dr. M. Pfaundler in München.
Scharlach. Von Dr. B. Schick in Wien.
Masern. Von Privatdozent Dr. P. Moser in Wien.
Röteln. Von Prof. Dr. J. v. Bókay in Budapest.
Dukes' „Vierte Krankheit“. Von Prof. Dr. J. v. Bókay in Budapest.
Erythema infectiosum. Von Prof. Dr. M. Pfaundler in München.

Varicellen. Von Dr. N. Swoboda in Wien.
Vakzination. Von Prof. Dr. C. v. Pirquet in Breslau.
Diphtherie. Von Privatdozent Dr. J. Trumpp in München.
Epidemische Parotitis. Von Privatdozent Dr. E. Moro in München.
Bauchtyphus. Von Prof. Dr. R. Fischl in Prag.
Dysenterie (Ruhr). Von Prof. Dr. J. Langer in Graz.
Influenza. Von Dr. J. H. Spiegelberg in München.
Keuchhusten. Von Dr. R. Neurath in Wien.
Akuter Gelenkrheumatismus. Von Privatdozent Dr. J. Ibrahim in München.
Syphilis. Von Privatdozent Dr. C. Hochsinger in Wien.
Tuberkulose. Von Prof. Dr. A. Schloßmann in Düsseldorf.
Skrofulose. Von Prof. Dr. B. Salge in Freiburg i. B.
Serumkrankheit. Von Prof. Dr. C. v. Pirquet in Breslau und Dr. B. Schick in Wien.

III. Band.

Erkrankungen der Mundhöhle. Von Privatdozent Dr. E. Moro in München.
Erkrankungen der Tonsillen, des Pharynx und des Ösophagus. Von Prof. Dr. med. et phil. H. Finkelstein in Berlin.
Ernährungskrankheiten des Säuglings. Von Prof. Dr. R. Fischl in Prag.
Lokale Erkrankungen des Magens und Darmes im frühesten Kindesalter. Von Prof. Dr. R. Fischl in Prag.
Magendarmkrankungen älterer Kinder. Von Prof. Dr. R. Fischl in Prag.
Pylorusstenosen im Säuglingsalter. Von Prof. Dr. M. Pfaundler in München.
Erkrankungen des Wurmfortsatzes. Von Prof. Dr. P. Selter in Solingen.
Tierische Parasiten. Von Prof. Dr. J. Langer in Graz.
Erkrankungen des Bauchfells. Von Prof. Dr. M. Stooß in Bern.

Erkrankungen der Leber. Von Prof. Dr. M. Stooß in Bern.
Pathologie des Stoffwechsels. Von Dr. W. Freund in Breslau.
Darmflora. Von Privatdozent E. Moro in München.
Vergiftungen. Von Prof. Dr. A. Schloßmann in Düsseldorf.
Erkrankungen von Nase, Luftröhre, Bronchien, Lunge und Pleura. Von Prof. Dr. E. Feer in Heidelberg.
Erkrankungen des Kehlkopfes. Von Dr. D. Gallatti in Wien.
Erkrankungen des Thymus, Status lymphaticus und plötzliche Todesfälle im Kindesalter. Von Dr. J. K. Friedjung in Wien.
Erkrankungen des Kreislaufsystems. Von Privatdozent Dr. C. Hochsinger in Wien.
Erkrankungen der Schilddrüse. Von Prof. Dr. F. Siegert in Köln.

IV. Band.

Erkrankungen des Urogenitalsystems. Von Prof. Dr. L. Langstein in Berlin.
Eigenheiten des kindlichen Zentralnervensystems. Von Prof. Dr. H. Pfister in Charlottenburg.
Organische Erkrankungen des Nervensystems. Von Privatdozent Dr. J. Zappert in Wien.
Funktionelle Erkrankungen des Nervensystems. Von Prof. Dr. M. Thiemich in Magdeburg.

Erkrankungen der Meningen. Von Prof. Dr. M. Thiemich in Magdeburg.
Hautkrankheiten (mit Ausnahme der tuberkulösen). Von Dr. E. Galewsky in Dresden.
Tuberkulöse Erkrankungen der Haut. Von Dr. C. Leiner in Wien.

Register zu Bd. I—IV.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

*Soeben erschienen als Supplementband zum Handbuch
der Kinderheilkunde:*

Chirurgie und Orthopädie

im

Kindesalter

von

Prof. Dr. Fritz Lange und **Dr. H. Spitzzy**
in München Privatdozent in Graz

Mit 21 zum Teil farbigen Tafeln und 221 Textfiguren

Preis broschiert M. 20.—, gebunden M. 23.—

Die deutsche Literatur hat seit Karewski 1894 kein Werk über die chirurgischen und orthopädischen Erkrankungen im Kindesalter aufzuweisen, obwohl der weitausgreifende Ausbau der Kinderheilkunde, die genauere Erkenntnis der physiologischen und pathologischen Zustände im Kindesalter, ganz besonders in der chirurgischen Auffassung vieler Krankheitsbilder eines Wandels bedarf. Das vorliegende Werk soll diese Lücke ausfüllen, es sollen in ihm dem Kinderarzte in knappester Form die wichtigsten chirurgischen Indikationen und therapeutischen Winke gegeben werden.

Das Hauptgewicht wurde auf jene Kapitel verlegt, die von der Chirurgie der Erwachsenen differieren, die in den großen Handbüchern keine spezielle Ausarbeitung erfahren haben.

So die Operationen an Säuglingen, die Säuglingshernien, angeborene Mißbildungen und ihre Frühoperation, die Fracturen im frühen Kindesalter, die Wachstumsdeformitäten, die Bauchchirurgie im Kindesalter, sowie jene Infekte, die einer chirurgischen oder orthopädischen Behandlung zugänglich sind.

Die neuen Werte, die die Biologie und Anthropologie für die Aetiologie vieler Krankheitstypen geprägt, wurden besonders berücksichtigt, und dementsprechend die Prophylaxe und körperliche Pädagogik in den Vordergrund gerückt, bezüglich der Technik der großen Operationen, soweit sie nicht im Kindesalter spezifische Abänderungen erfahren, wurde auf die entsprechenden Handbücher verwiesen.

Die klinischen und therapeutischen Erfahrungen basieren hauptsächlich auf dem großen Krankenmaterial der Kinderklinik Graz, und entspringen persönlichen langjährigen Erfahrungen, deren Niederschlag in dem Buche wiedergegeben sein soll.

Auf diese Weise sei dem Prinzipie des Werkes aus der Praxis für die Praxis geschrieben zu sein, Rechnung getragen. Die Haltungsanomalien der Wirbelsäule stammen aus der Feder eines der bedeutendsten Vertreter der modernen Orthopädie Professor Dr. F. Lange in München.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

*In Vorbereitung befindet sich als Supplementband zum
Handbuch der Kinderheilkunde:*

Die Ohrenkrankheiten

im

Kindesalter

von

Dr. Gustav Alexander,

a. o. Professor an der k. k. Wiener Universität

Vorstand der Ohrenabteilung der allgemeinen Poliklinik in Wien.

Das Werk wird in Ergänzung des Handbuches der Kinderheilkunde eine eingehende und auf der Höhe der gegenwärtigen Forschung und Lehre stehende Abhandlung der Klinik und Behandlung der Ohrenkrankheiten bieten. Der Kinderarzt ist häufig genug veranlaßt, selbständig und ohne Zuziehung eines Ohrenarztes den Ohrbefund und den eventuellen Bestand einer Ohrerkrankung an seinen kleinen Patienten festzustellen. Das Buch ist nun in erster Linie dazu bestimmt, dem Kinderarzt nach jeder Richtung verlässliche, diagnostische und therapeutische Anweisungen zu geben. Es ist selbstverständlich, daß hierbei die Ohrerkrankungen des Säuglingsalters und der akuten Infekte sehr eingehend berücksichtigt werden. Die Angliederung an das Handbuch von PFAUNDLER und SCHLOSSMANN bringt es auch mit sich, daß die Frage der Taubstummheit, der Taubstummtenbildung, der Erziehung der Schwerhörigen, die Schularztfrage und die konstitutionellen Ohrenkrankheiten ausführlich anatomisch-klinisch erörtert werden.

Das Gehörorgan läßt im Kindesalter gegenüber dem des Erwachsenen wesentliche Verschiedenheiten erkennen, denen nicht bloß eine anatomisch-theoretische, sondern auch klinische Bedeutung zukommt, und die in Diagnostik und Therapie nicht vernachlässigt werden dürfen. Aus diesem Grunde mußte die Anatomie und die Physiologie des Gehörorganes des Kindes grundlegend dargestellt werden. Wie für alle Abhandlungen des Handbuches ist als obere Altersgrenze die erreichte Pubertät fixiert worden. So kommt es, daß vielfach auch die Ohrenkrankheiten der Erwachsenen, und endlich die gesamte Otochirurgie und die Abhandlung der otitischen Erkrankungen des Hirns, der Hirnhäute und der Blutleiter in den Rahmen der Darstellung einbezogen wurden.

Das Buch wird mehrere farbige Tafeln und eine große Anzahl von Textfiguren enthalten.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

*In Vorbereitung befindet sich als Supplementband zum
Handbuch der Kinderheilkunde:*

Augenerkrankungen des Kindesalters

von

Prof. Dr. O. Eversbusch,

Vorstand der kgl. Universitätsklinik und Poliklinik für Augenranke, München.

Mit Abbildungen.

Wie die Kindererkrankungen im allgemeinen, so sind auch in der Neuzeit die Krankheiten des Auges im Kindesalter fortgesetzt ein viel und gern behandelter Gegenstand der pädiatrischen und ophthalmologischen Forschung geblieben.

Das Ergebnis dieser, verbunden mit der auf einer eigenen langjährigen praktischen Wirksamkeit beruhenden Erfahrung beabsichtigt die kurze monographische Darstellung des Verfassers auch dem Kreise der Ärzte zu vermitteln, die weder auf diesem Gebiete spezialistisch vorgebildet noch auch spezialistisch tätig sind.

Wie das Hauptwerk will auch diese Zugabe vor allem dem praktischen Arzte, insbesondere dem Hausarzte, ein Ratgeber für Tun und Lassen, wie beim gesunden, so auch beim kranken Kinde sein.

Es soll daher nicht nur was nosologisch bemerkenswert ist, sondern auch — und in höherem Grade — das prophylaktisch und propädeutisch Wichtige berücksichtigt werden.

Darum muß der Leser Genaueres vor allem über die vornehmlich im kindlichen Lebensalter vorkommenden Augenerkrankungen erfahren. So sind denn von den äußerlich zutage tretenden Erkrankungen der Augen u. a. die blennorrhoeische Bindehaut-Entzündung der Neugeborenen, die krupöse und diphtheritische Conjunctivitis, die vielgestaltigen Manifestationen der sogenannten skrofulösen Ophthalmie: (Ekzem des Lidrandes, der Blepharospasmus, die exanthematischen Erkrankungen der Conjunctiva und Cornea), der Frühjahrskatarrh, die Follikular-Entzündung der Conjunctiva und die Keratomalacie, die Vaccine-Blepharitis usw.; kurz die wichtigen Krankheitsformen, bei denen die richtige Erkennung der Krankheit und das erste ärztliche Handeln nicht selten von ausschlaggebender Bedeutung ist, eingehender behandelt; aus gleichen Erwägungen die hereditär-syphilitischen und tuberkulösen Erkrankungen der Cornea und Uvea, die metastatische Uvealentzündung, das infantile Glaukom und die häufigsten Starformen des Kindesalters und die beachtenswerten Anomalien der Refraktion und Akkommodation.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

*In Vorbereitung befindet sich als Supplementband zum
Handbuch der Kinderheilkunde:*

Die Sprach- und Stimmstörungen

im

Kindesalter

von

Dr. Max Nadoleczny, München

Eine kurze monographische Bearbeitung der Sprach- und Stimmstörungen im Kindesalter, welche in allen anderen Lehrbüchern noch fehlt, dürfte einem wirklichen Bedürfnisse entsprechen. Der einleitende Abschnitt soll einen Überblick über die Physiologie und insbesondere auch die Psychologie der Sprachentwicklung beim Kinde geben, aus dem sich dann in einem weiteren Kapitel die Hemmungen derselben ableiten lassen. Die Häufigkeit der Sprachstörungen sowie ihre Bedeutung für Schule und Leben werden mit besonderer Beachtung schulärztlicher Interessen dargestellt werden. An diese allgemeine Darstellung wird sich die spezielle Pathologie und Therapie der einzelnen Sprachstörungen anzureihen haben, z. B. Stammeln, Stottern, ferner die symptomatischen Störungen bei verschiedenen organischen und funktionellen Krankheitsformen einschließlich der Pubertätsstörungen. Besondere Berücksichtigung werden ferner die Sprachstörungen schwachsinniger Kinder finden. Den Schluß des ersten Teils soll eine Darstellung der dyslogischen Sprach- bzw. Redestörungen bilden.

Die stimmliche Entwicklung vom Säugling bis zur Mutationsperiode, insbesondere die Sprech- und Singstimme des Schulkindes wird in einem einleitenden physiologischen Kapitel des zweiten Teils besprochen werden. Hieran schließen sich Abschnitte über die Pathologie, Therapie und Prophylaxe der Stimmstörungen einschließlich der Pubertätsstörungen. Gerade auf dem Gebiete der Stimmpflege fehlte es bis jetzt an einer zusammenfassenden Arbeit, welche alles für Kinderärzte Wissenswerte enthält.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

Lehrbuch **der** **Physiologie des Menschen**

von

Prof. Dr. N. Zuntz und **Prof. Dr. A. Loewy**
Berlin. Berlin.

Unter Mitwirkung von

du Bois-Reymond (Berlin), **Cohnheim** (Heidelberg), **Ellenberger** (Dresden), **Exner** (Wien), **Johansson** (Stockholm), **Kreidl** (Wien), **weiland Langendorff** (Rostock), **Metzner** (Basel), **Müller** (Rostock), **Nagel** (Rostock), **Schenck** (Marburg), **Scheunert** (Dresden), **Spiro** (Straßburg), **Verworn** (Göttingen) und **Weiß** (Königsberg)

763 Seiten mit 306 Abbildungen und 2 Tafeln.

Preis M. 24.—, gebunden M. 26.—.

Wenn mir jemand die Frage vorgelegt hätte, ob es möglich sei ein brauchbares Lehrbuch der Physiologie im Umfange des vorliegenden durch Collaboration von 17 Autoren entstehen zu lassen, muß ich offen bekennen, ich hätte große Bedenken nicht verhehlt. Denn es wachsen die Schwierigkeiten für ein Sammelwerk sowohl mit der Zahl der Mitarbeiter wie auch mit der Beschränkung an Raum, die man dem einzelnen auflegen muß. Wenn trotzdem das vorliegende Lehrbuch ein nach jeder Richtung gelungenes ist, so muß einerseits die Redaktion mit zielbewußter Energie ihres Amtes gewaltet haben; auf der anderen Seite haben sich aber die Mitarbeiter offenbar dem aufgestellten Programm und dem redaktionellen Szepter willig gebeugt. Nur auf diese Weise konnte der Guß so gelingen wie hier, und nur so konnte ein durchaus einheitliches Werk entstehen. Keiner der beteiligten Autoren hat sein Kapitel als das allerwichtigste betrachtet, dem ein verhältnismäßig größerer Raum eingeräumt werden muß als den andern, und harmonisch gefügt erscheint das Buch als eine literarische Einheit. Ich kann es mir ersparen auf Einzelheiten einzugehen, denn es sind lauter anerkannte Meister des Faches, die hier zusammengearbeitet haben, und so findet

man kein einziges Kapitel, das nicht weit über die Mittelmäßigkeit erhaben wäre. Die Kapitel Stoffwechsel von Zuntz, Verdauung von Ellenberger und Scheunert, Allgemeine Physiologie von Verworn, und manches andere mehr sind Kabtmettstücke klarer Darstellung. Die Leser dieser Zeitschrift werden es allerdings bedauern, daß gerade das Kapitel Milch nicht so ganz auf der Höhe des übrigen, z. B. auch des Kapitels Innere Sekretion des gleichen Autors steht. An der Behauptung, daß der Phosphor der Frauenmilch fast ausschließlich in organischer Bindung vorhanden sei, ist Referent zu sehr mitschuldig, um noch weiter auf das unrichtige derselben einzugehen. Aber auch in bezug auf die abgesonderten Mengen Frauenmilch und ihre Zusammensetzung wissen wir doch mancherlei, was in der bald zu erwartenden 2. Auflage sicher unter Berücksichtigung unserer speziellen Fachliteratur sich ausführen ließe. Selbstverständlich können solche Kleinigkeiten weder den Wert des in Rede stehenden Kapitels im ganzen noch etwa gar den des gesamten Werkes im geringsten beeinträchtigen. Ich halte dasselbe vielmehr für eine vortreffliche Bereicherung der Literatur. Gerade ein Buch dieses Umfanges hat in der Physiologie gefehlt, während uns ja die letzte Zeit groß angelegte und ausführliche Werke über diese gesamte Wissenschaft und Teile derselben gebracht hat. Trotzdem glaube ich, daß das Lehrbuch mehr sein wird als nur ein Lehrbuch für den Studenten: ich glaube, es wird ein Handbuch im besten Sinne des Wortes für den Arzt darstellen, ein Buch, das man auf dem Schreibtisch stehen hat und mit Hilfe dessen man seine Fälle physiologisch durchdenken kann. Der Praktiker, der es ernst nimmt mit seiner Klientel, ist ja doch nichts anderes als Vertreter der angewandten Physiologie. Tagtäglich stößt man dabei auf Fragen, die man rasch beantwortet haben muß. Und dabei wird der Zuntz-Loewy ein getreuer Helfer sein. Auf meinem Schreibtisch ist schon Platz für ihn geschafft.

Prof. Dr. A. Schloßmann (Düsseldorf)
im Archiv für Kinderheilkunde, 32. Band, 1910.

VERLAG VON F. C. W. VOGEL IN LEIPZIG.

Soeben erschienen:

Die Störungen der Sprache

Von

weil. Dr. Adolf Kussmaul,

Professor in Straßburg

==== 4. Auflage ====

herausgegeben und mit Kommentar nebst Ergänzungen versehen

von

Prof. Dr. Hermann Gutzmann,

Leiter des Universitäts-Ambulatorium für Sprachstörungen zu Berlin

broschiert M. 10.—, gebunden M. 11.25.

Das Werk des großen Klinikers Kussmaul erscheint hiermit in neuer Auflage. Wer Kussmaul's Werk zur Hand nimmt, wünscht sein Wort zu hören. Der Herausgeber hat deshalb in der neuen Auflage Text und Anordnung unverändert bestehen lassen. Damit sich aber der Leser über den heutigen Standpunkt der Wissenschaft leicht unterrichten und kritisch vergleichen könne, damit er die zu genauerem Studium schwebender und schwieriger Fragen nötigen literarischen Hinweise bequem zur Hand habe, hat der Herausgeber, Herr Professor Gutzmann, einen kleinen Kommentar zu den einzelnen Kapiteln und Abschnitten verfaßt, in dem er veränderte Auffassungen und ergänzende Erfahrungen in kurzen Zügen objektiv darzustellen sich bemüht hat. Aus diesem Kommentar, dessen Vorhandensein den Genuß der Lektüre nicht stören kann, wird der Leser immerhin erfahren, wie modern der weitsichtige klinische Meister auch jetzt noch ist.

Das Sexualleben des Kindes

Von

Dr. Albert Moll

Sanitätsrat in Berlin

broschiert M. 5.—; gebunden M. 6.50



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

Herbst 1909 erschien:

Fünfte neubearbeitete Auflage

Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden

von

Prof. Dr. G. Schmorl

Geh. Medizinalrat und Prosektor am Stadtkrankenhaus zu Dresden.

Preis M. 8.75, gebunden M. 10.—.

Prager medizinische Wochenschrift: Kaum 2 Jahre sind seit dem Erscheinen der vorigen Auflage dieses mit Recht so außerordentlich geschätzten Leitfadens vergangen und schon hat die ununterbrochen fortschreitende histologische Technik das Erscheinen einer neuen bedingt.

Zentralblatt für Chirurgie: Die neue Auflage hat verschiedene Erweiterungen und Ergänzungen erfahren, und darf wohl für sich einen dominierenden Platz unter den mit der gleichen Materie sich befassenden Werken in Anspruch nehmen.

St. Petersburger medizinische Wochenschrift: Der vierten Auflage dieses in Laboratorien unentbehrlichen Buches ist jetzt nach 2 Jahren die fünfte gefolgt und bringt außer den alt-eingebürgerten Methoden manches Neue, was sich in der Praxis seitdem bewährt hat.

Medizinische Klinik: Nach kaum 2 Jahren ist die neubearbeitete Auflage des bekannten und unentbehrlichen Buches erschienen, das einer empfehlenden Besprechung nicht bedarf.

 Verlag von **F. C. W. VOGEL** in Leipzig. 

Die Krankenpflege in der Chirurgie

von

Dr. H. A. Laan in Utrecht

Einzig autorisierte Übersetzung aus dem Holländischen von

Dr. med. Albert Caan

Mit einem Vorwort von Professor **Dr. A. Schloßmann**, Direktor der Akadem.
Klinik für Kinderheilkunde in Düsseldorf

Mit 327 Abbildungen. Preis brosch. M. 10.—, gebunden M. 11.25

Man schenkt zurzeit allerorts der Krankenpflege ernste Beachtung und sucht dieselbe durch gute Schulung (Vorträge, Kurse) des Pflegepersonals in jeder Hinsicht zu fördern. Einen gleichen Zweck verfolgt das vorliegende, treffliche Werk von Laan. Es will ein Führer und Ratgeber sein für die Krankenschwester und hat sich die Aufgabe gestellt, speziell die „chirurgische“ Schwester auszubilden; und zwar will es erreichen, daß die Schwester nicht allein mechanisch und schablonenhaft, sondern mit Verständnis und im vollen Bewußtsein der Tragweite ihres Handelns ihr Amt erfüllen kann. Mit der Verantwortlichkeit wächst die Gewissenhaftigkeit. Von diesem Gedanken sind die Ausführungen aller Abschnitte des Buches beseelt. Immer wird das Zweckmäßige einer jeden Funktion erörtert. Und mit Recht. Weiß eine Schwester, warum sie eine gewisse Handlung ausführen muß, dann wird sie sie auch richtig tun. Das gilt vor allen Dingen von der Desinfektion. Weiß die Schwester, warum sie sich streng waschen und desinfizieren muß, so wird sie auch in diesem Punkte, der erfahrungsgemäß aus Mangel an den nötigen Kenntnissen so leicht für unnötig gehalten und vernachlässigt wird, die größte Gewissenhaftigkeit walten lassen. So wird die Schwester, bevor sie in die praktische Krankenpflege eingeführt wird, zunächst mit den Haupttatsachen aus der Lehre von der Wunde und dem Wesen der Infektion und deren schädlichen Folgen vertraut gemacht. Bei der Bearbeitung gerade dieser schwierigen Aufgabe hat Verfasser es verstanden, nur so viel zu bringen und nur das zu besprechen, was die Schwester unbedingt wissen und können muß, damit ihr chirurgische Kranke mit vollem Vertrauen überlassen werden können, und vermeidet so die Gefahr, die Schwester durch allerlei unvollständige und halbverstandene Angaben aus der Pathologie und Therapie der Wunde zum Selbsthandeln zu verleiten oder gar dem Kurpfuschertum Vorschub zu leisten.

Erst nach diesen mehr allgemeinen Belehrungen wird die Schwester eingehend in die praktische Krankenpflege eingeführt. Es ist unmöglich alle Einzelheiten, die reiche Fülle der Lehren, guten Ratschläge, die in dem Buch enthalten sind, im Referate wiederzugeben. Im einzelnen werden in sechs Abschnitten folgende Themata behandelt:

Die Lehre von der Wunde (I) und Infektion (II), sehr eingehend die Desinfektion und ihre Technik, die Sterilisation der Instrumente und des Verbandmaterials, die Prinzipien der Wundbehandlung mit Einschluß der ersten Hilfe (Notverband, primitive Blutstillung) bei plötzlichen Unglücksfällen (III).

Ein besonderer Abschnitt (IV) ist der Operationsschwester gewidmet. Hier finden sich wichtige Belehrungen über Vorbereitung zur Operation, Instrumentieren, Narkose und über die subkutanen Injektionen. Der Schlußteil dieses Abschnittes handelt von den Instrumenten und ihrer Bedeutung. Verfasser verlangt, daß die Operationsschwester unbedingt die gebräuchlichsten Instrumente und deren Verwendung kennen muß, ferner daß sie imstande sein muß, den einzelnen Phasen einer Operation so weit zu folgen, um die nötigen Instrumente gleich bereit zu halten und so nicht unwesentlich zur Vermeidung einer zu langen Dauer von Operation und Narkose beizutragen. Es ist dies eine hohe Anforderung, die Verfasser an die Operationsschwester stellt, aber sie ist gerechtfertigt. Zur Operationschwester eignet sich nicht jede Schwester!

Die ganze Darstellung ist durchflochten von einer Reihe von kleinen Ratschlägen und Kunstgriffen, von deren Kenntnis die Schwester großen Nutzen haben wird.

Das Gleiche gilt von den folgenden, nicht minder wichtigen Abschnitten, die die Aufgabe der Stationsschwester, der Privat- und Gemeindepflegerin behandeln. Hier finden sich goldene Regeln der Krankenpflege überhaupt niedergelegt: Belehrungen über Nachbehandlung Operierter, über die Lagerung der Kranken, über Ernährung, über Verbände, über allgemeine Hygiene. Spezielle Ratschläge zur Pflege und Nachbehandlung der Diphtherie (mit Berücksichtigung der Intubation, der Tracheotomie und deren Instrumentarium), der Krankheiten des Bauches (Magenfisteln, Ernährung) und endlich der Kopfkrankheiten (Hals- und Mundoperationen) beschließen den lehrreichen Abschnitt.

Im ganzen ist das Buch ein herrliches Werk, leicht faßlich und anregend geschrieben, mit vielen guten Bildern ausgestattet, das wohl wert ist, die weiteste Verbreitung zu finden.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

Einführung in die Lehre

vom

Bau und den Verrichtungen des Nervensystems

von

Prof. Dr. Ludwig Edinger

Ärztlicher Direktor des neurologischen Institutes in Frankfurt a. Main.

Mit 161 Abbildungen und 1 Tafel.

Preis M. 6.—, geb. M. 7.25.

Kritiken aus Zeitschriften:

Zentralblatt für Nervenheilkunde: Edingers anregende Art der Darstellung ist bekannt, wir finden sie auch in dem vorliegenden kleinen Buche, das jedem zu empfehlen ist, der sich auf dem behandelten Gebiete orientieren will und nicht die Zeit hat, sich in das große Buch des gleichen Autors (Vorlesungen über den Bau der nervösen Zentralorgane, 2 Bände) zu vertiefen.

Anatomischer Anzeiger: Die vorliegende „Einführung“ dürfte für Studierende, aber auch für Lehrende in der Anatomie, Physiologie und Pathologie des Nervensystems gleich brauchbar sein und zu ferneren Studien und Forschungen anregen.

Zentralblatt für normale Anatomie: In 15 Vorlesungen gibt der bekannte Frankfurter Neurologe einen ganz vorzüglichen Überblick über die Haupttatsachen von dem Baue des Nervensystems. Klar und anregend geschrieben dürfte das Werkchen für den Anfänger eine treffliche Introduction in diese schwierige Materie bilden. Es ist außerordentlich reichlich mit gut gewählten Abbildungen ausgestattet, die den Text auf das beste unterstützen.

Deutsche medizinische Wochenschrift: Mit dem vorliegenden Buch hat Edinger in mustergültiger Weise eine kurze Orientierung über die Tatsachen der Anatomie des Nervensystems für den praktischen Arzt als Basis seiner klinischen Arbeit wiedergegeben. Er hat es in ausgezeichnete Weise verstanden, aus der Fülle des bekannten das aus-

zuwählen, was entweder prinzipielle Bedeutung hat, oder für die Kliniker von Wichtigkeit ist. Auf dem engen Raum von 190 Seiten das zu erreichen, dazu gehören die eminenten, die taktischen Fähigkeiten Edingers.

Berliner klinische Wochenschrift: Das 190 Seiten starke Büchlein zeichnet sich durch die außerordentliche Klarheit der Darstellung aus und ist mit zahlreichen Abbildungen versehen, die gerade dem Anfänger auf diesem schwierigen Gebiet zum Teil das Verständnis überhaupt erst ermöglichen.

Münchener medizinische Wochenschrift: Edingers „Einführung“, auf der Summe unserer heutigen histologischen, anatomischen und vergleichend anatomischen Kenntnisse über das Zentralnervensystem basierend und durch zahlreiche historische, embryologische, physiologische, psychologische (speziell tierpsychologische) und pathologische Hinweise und Erörterungen gewürzt, füllt eine lebhaft empfundene Lücke in der Literatur auf das erfreulichste aus, insofern es den, welcher nicht in die Tiefen der Detailarbeiten sich zu versenken beabsichtigt, ausgezeichnet orientiert, dem beginnenden Spezialisten aber als geeignetste Vorbereitung zum Studium ausführlicherer Werke, etwa der „Vorlesungen über den Bau der nervösen Zentralorgane“ des gleichen Verfassers, zu dienen vermag.

Vorlesungen über den Bau der nervösen Zentralorgane des Menschen und der Tiere

für Ärzte und Studierende

von

Prof. Dr. Ludwig Edinger

Ärztlicher Direktor des neurologischen Instituts in Frankfurt a. Main.

Erster Band:

Das Zentralnervensystem des Menschen u. der Säugetiere

Siebente, umgearbeitete und vermehrte Auflage

Mit 268 Abbildungen. Preis M. 12.—, geb. M. 13.50

Zweiter Band:

Vergleichende Anatomie des Gehirns

Siebente, umgearbeitete und vermehrte Auflage.

Mit 283 Abbildungen. Preis M. 15.—, geb. M. 16.50.



Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig.

1909 erschien:

Die Röntgenuntersuchung der Brustorgane und die Ergebnisse für die Pathologie und Psychologie

von

Professor Dr. **Hans Arnsperger**, Heidelberg

Mit einem Vorwort von Geh. Rat Prof. Dr. **von Krehl**

Mit 34 Abbildungen im Text und 27 Tafeln

Preis M. 12.—, gebunden M. 13.50

Schmidts Jahrbücher. In dem Vorworte schildert Krehl kurz und sehr treffend die Gefahren und Übelstände, die aus einer Spezialisierung der Röntgenuntersuchung entstehen können. Der behandelnde Arzt ist nicht in der Lage, sie anzuwenden, der Röntgenspezialist kennt den Fall nicht und es gibt „Röntgendiagnosen“, die ohne Zusammenhang mit dem Gesamtgebiet entstehen, und die, weil sie Beziehungen weder zur pathologischen Anatomie, noch zur pathologischen Physiologie haben, gewissermaßen in der Luft stehen. Wenn solche Diagnosen, weiter Auslegung fähig, unter geheimnisvollen Andeutungen den Kranken, wie es modernen Gebräuchen entspricht, direkt gesagt werden, so ist das Unglück leicht fertig. „Die große Schlagader ist etwas erweitert, sonst nichts. In der Gegend der Lungenwurzel ist ein Schatten, man muß an ein Aneurysma der Aorta, oder an Drüsen, oder an eine Geschwulst denken! Jetzt hat der Kranke seinen Schrecken und der Arzt weiß genau soviel wie vorher.“ Sehr richtig! ruft man zu diesen Worten unwillkürlich aus eigener trüber Erfahrung und nimmt das Buch, das solchem Unfug abhelfen soll, gern in die Hand.

St. Petersburger medizinische Wochenschrift: Es ist unzweifelhaft eine große Wahrheit, auf welche Prof. L. Krehl zu Beginn dieser vortrefflichen Arbeit von Arnsperger hinweist. Die Röntgenologie ist auf dem Gebiete der inneren Medizin als Hilfswissenschaft nicht mehr zu entbehren. Aber sie hat sich nicht als Spezialwissenschaft von dieser ganz und gar loszulösen. Eine Röntgendiagnose, die sich nicht in den gesamten Bau unserer klinischen Diagnostik eingliedert, schwebt in der Luft. Wenn dieses schon in gewissem Sinne von der chirurgischen Röntgendiagnostik gesagt werden kann, so trifft es in ganz besonderem Maße das Gebiet der internen Röntgenologie. Diesen Vorbedingungen genügt das Werk Arnsperger, welches dem großen Forscher Wilhelm Erb gewidmet ist, ganz und gar.

 Verlag von F. C. W. VOGEL in Leipzig. 

Pathologische Physiologie

Ein Lehrbuch
für Studierende und Ärzte

von

Dr. Ludolf Krehl

ordentl. Professor und Direktor der Medizinischen Klinik in Heidelberg

Sechste neu bearbeitete Auflage.

Preis 15 M., gebunden 16.50 M.

Kritiken aus Zeitschriften:

Zentralblatt für Physiologie.

„Krehl's Pathologische Physiologie“ ist ein Lehrbuch in des Wortes bester Bedeutung, das die Aufgabe „bei Studierenden und Ärzten das Interesse für die Theorie des pathologischen Geschehens zu fördern“ in hohem Grade erfüllt.

O. v. Fürth (Wien).

Deutsche Medizinische Wochenschrift.

Der Besprechung, die ich über das ausgezeichnete Werk in den letzten beiden Jahren an dieser Stelle veröffentlicht habe, ist etwas Wesentliches nicht anzuschließen; man kann nur das Lob wiederholen, daß ihm ein hoher pädagogischer Wert innewohnt und daß es deshalb jedem Arzt und Studierenden zum Studium aufs wärmste empfohlen werden kann.

Münchener medizinische Wochenschrift.

Wir haben in dieser Wochenschrift den hohen Wert des Krehl'schen Lehrbuches, das einzig in seiner Art dasteht, bei der Besprechung der früheren Auflagen wiederholt gepriesen und könnten bereits Gesagtes nur wiederholen.

Stintzing.

Wiener Klinische Wochenschrift.

Ein Standardwerk, wie nur wenige Nationen aufweisen können, hat Krehl mit seinem Lehrbuch der pathologischen Physiologie geschaffen.

Biochemisches Zentralblatt.

Diese Auflage ist so überraschend schnell auf die vor kurzem hier angezeigte vierte gefolgt, daß sich daraus besser wie aus jeder Kritik die Brauchbarkeit des Krehl'schen Werkes ergibt.

Oppenheimer.

Zentralblatt für innere Medizin.

Nach 1½ Jahren hat der verdienstvolle Forscher seinem ausgezeichneten Werke die fünfte Auflage folgen lassen, ein Beweis, welch stetig wachsender Beliebtheit sich das Buch erfreut, und daß es seiner Aufgabe, bei Studierenden und Ärzten das Interesse für die Theorie des pathologischen Geschehens zu fördern, in vollem Umfange nachgekommen ist.

Ruppert (Magdeburg).

